Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

52. BAND, 3. HEFT
MIT 77 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 14. NOVEMBER 1958)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1958

Planta (Berl.)

Preis DM 27.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

---

52. Band **Inhaltsverzeichnis** 3. Heft

Seite

MORGAN, D. G., und H. SÖDING, Über die Wirkungsweise von Phthalsäure-mono-α-Naphthylamid (PNA) auf das Wachstum der Haferkoleoptile. Mit 10 Textabbildungen 235

LOCKHART, J. A., The role of gibberellin in the control of pea growth by temperature. With 4 figures in the text 250

RICHTER, G., Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von Acetabularia mediterranea. Mit 10 Textabbildungen . . . 259

SCHLEUSS, G., Über die Fruchtentwicklung der Gattung Dorstenia, insbesondere über ihren Turgescenz-Schleudermechanismus. Mit 39 Textabbildungen 276

SCHMID, R., Über die Struktur und Teilung der Kerne von Geotrichum candidum und Geotrichum magnusii. Mit 5 Textabbildungen 320

CLAUSS, H., Über quantitative Veränderungen der Chloroplasten- und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von Acetabularia mediterranea. Mit 9 Textabbildungen 334

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 52, S. 235—249 (1958)

Aus der Jealott's Hill Research Station, Bracknell, England,
und dem Staatsinstitut für allgemeine Botanik in Hamburg

ÜBER DIE WIRKUNGSWEISE VON PHTHALSÄUREMONO-α-NAPHTHYLAMID (PNA) AUF DAS WACHSTUM DER HAFERKOLEOPTILE *

Von

DYFRIG G. MORGAN und HANS SÖDING

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Mai 1958)

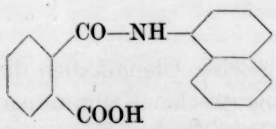
Einleitung

Es ist wiederholt gezeigt worden, daß gewisse Chemikalien die Entwicklung normaler geotropischer und phototropischer Krümmungen von Wurzeln und Sprossen hemmen können. Das gilt für Fluorescein und Eosin (BOAS und MERKENSCHLAGER 1925), Erythrosin (BOYSEN JENSEN 1934), Phthalsäure-α-naphthylamid und andere Phthalsäuremonoarylamide (MENTZER, MOHLO und PACHECO 1950), 2-Benzoylbenzoesäure, Diphenyl-o-carboxylsäuren, Arylnitramine, 2,3,5-Trijodbenzoesäure (JONES, METCALFE und SEXTON 1954) und 2,4,6-Trichlorphenoxyessigsäure (BRUMFIELD 1955)). Diese Stoffe verhindern irgendwie die Entstehung einer Wachstumsdifferenz an den verschiedenen Seiten der Sprosse oder Wurzeln, die sonst auf einseitige Einwirkung von Schwerkraft oder Licht hin eintritt. JONES, METCALFE und SEXTON (1954) geben in ihrer Diskussion über die Wirkungsweise der „antitropistischen" Stoffe verschiedene mögliche Mechanismen an, durch die die tropistischen Krümmungen gehemmt werden können. Das sind: 1. eine Störung der biochemischen Funktion des Wuchsstoffes, 2. eine Störung der Querverschiebung des Wuchsstoffes in der Spitze von Sproß oder Wurzel, 3. eine Störung bei der Ausbildung der elektrischen Potentialdifferenz im gereizten Organ. Nach ihrer Meinung ist der Mechanismus 1 unwahrscheinlich, weil mehrere der aktiven Stoffe die Wirksamkeit der Indolylessigsäure (IES) im Erbsen- und *Avena*-Zylindertest nicht beeinträchtigten. Auch reduzierten einige der antitropistischen Substanzen in bestimmten Konzentrationen die geotropischen Krümmungen, ohne die Länge der Wurzeln oder Koleoptilen zu beeinflussen [Wurzel von *Phleum pratense* (BRUMFIELD 1955), *Triticum vulgare* und *Brassica napus* (JONES, METCALFE und SEXTON 1954), *Avena*-Koleoptilen (MORGAN, unveröffentlicht)]. Es schien deshalb wahrscheinlich, daß

* Herrn Prof. W. MEVIUS zum 65. Geburtstag gewidmet.

die antitropistischen Stoffe durch den Mechanismus 2 oder 3 oder in anderer Weise Geotropismus und Phototropismus stören. Auch eine Blockierung der polaren Wuchstoffleitung könnte ein Mechanismus sein, durch den die Krümmungen reduziert werden.

Die vorliegende Arbeit wurde unternommen, um festzustellen, ob die antitropistische Wirkung von Phthalsäuremono-α-naphthylamid (PNA) einer Störung der biochemischen Aktivität oder der polaren Leitung des Wuchsstoffes zuzuschreiben sei. Die Wirkung von PNA auf diese zwei Aspekte des Wuchsstoffwechsels wurde in biologischen Versuchen geprüft, in denen *Avena*-Koleoptilen als Testorgane benutzt wurden. Ein Effekt auf die biochemische Aktivität von IES wurde mittels des *Avena*-Zylindertestes untersucht, wobei 3 mm lange Koleoptilzylinder in den Testlösungen schwammen. Eine Wirkung auf den polaren Transport des Wuchsstoffes wurde indirekt auf zwei Weisen geprüft.



Phthalsäuremono-α-naphthylamid (PNA), N-(1-naphthyl)-phthalamidsäure, α-naphthyl-phthalamic acid (NPA).

1. Die Wirkung von PNA auf die Aktivität der IES wurde in verschiedenen *Avena*-Testmethoden vergleichend untersucht, in denen teils eine polare Wuchsstoffleitung für eine Förderung des Wachstums notwendig ist [Methoden, in denen die Testsubstanzen in Agarwürfeln apikal zugegeben werden — *Avena*-Krümmungsversuche und *Avena*-Zylindermethode (SÖDING 1952)] — und teils nicht notwendig ist (*Avena*-Zylindermethode mit in Testlösungen schwimmenden kurzen Zylindern). Eine Reduktion der durch IES hervorgerufenen Wachstumsförderung durch PNA in den ersten zwei Methoden könnte durch Wirkungen auf die biochemische Aktivität der IES oder auch durch Störung der polaren Leitung der IES erklärt werden. In der letztgenannten Methode könnte eine Wachstumsverminderung durch PNA nur auf eine Wirkung auf die biochemische Aktivität des Wuchsstoffes zurückgeführt werden. Wenn deshalb ein Stoff die Aktivität der IES nur in den ersten zwei Methoden, aber nicht in der letzten, herabsetzt, ist anzunehmen, daß der Stoff die polare Leitung der IES blockiert.

2. Das Wachstum von vier je 2 mm langen Zonen der 10 mm langen *Avena*-Koleoptilzylinder wurde 2, 4, 6 und 24 Std nach einer *apikalen* Zugabe von PNA mit oder ohne IES-Zusatz in Agarwürfeln gemessen. Die Streckung der unbehandelten und der mit IES behandelten Zylinder ist von einer polaren Leitung des Wuchsstoffes aus der Zylinderspitze abhängig. In den unbehandelten Zylindern wandert der Wuchsstoff von der regenerierten „physiologischen Spitze" und in den behandelten Zylindern von den Agarwürfeln in der Koleoptile abwärts. Es ist zu

erwarten, daß PNA das Wachstum der Zylinder reduzieren wird, wenn dieser Stoff entweder die biochemische Aktivität oder die polare Leitung von IES beeinträchtigt; aber die Reduktion wird in den verschiedenen Zonen der Zylinder verschieden sein, je nachdem welcher Vorgang gestört wird. Wenn die Wuchsstoffleitung blockiert wäre, würde man erwarten, daß die Hemmung des Wachstums in der tiefsten Zone größer sein würde als in der obersten Zone, weil der Wuchsstoff dann oben bleiben würde. Wenn andererseits die biochemische Aktivität der IES beeinträchtigt wäre, würde zu erwarten sein, daß vor allem das Wachstum der oberen Zone herabgesetzt würde. Die Ergebnisse der *Avena*-Krümmungsversuche zeigten nämlich, daß PNA in der Koleoptile nicht schnell und gut transportiert wird. Wenn dies der Fall ist, müßte eine Wachstumshemmung vor allem der oberen Zonen die Folge sein.

Alle Versuche dieser Arbeit wurden dreimal bis sechsmal wiederholt. Die Werte in den Tabellen und Abbildungen sind die Mittel aus allen Versuchen.

A. Die Wirkung von PNA auf die Aktivität der IES bei den verschiedenen Avena-Testmethoden

I. Methoden, bei denen ein polarer Wuchsstofftransport nicht beteiligt ist (Avena-Zylindertest mit Lösungen)

Methode. Die Wirkung einer großen Reihe von PNA-Konzentrationen auf das Wachstum von 3 mm langen Zylindern, die 3 mm unterhalb der Spitze von 15 mm langen Koleoptilen genommen waren, wurde untersucht. In einigen Versuchen wurde auch der Einfluß verschiedener PNA-Konzentrationen auf die Streckung von Zylindern bestimmt, die 3, 6 und 9 mm unterhalb der Spitze geschnitten waren. Außerdem wurde auch die Wirkung einer Kombination von PNA und IES geprüft.

Eine etwa 2 mm lange Zone wurde auf jedem Zylinder durch zwei kleine Punkte markiert, die mit einer Suspension von feinzerteilter Kohle in Paraffinöl angebracht worden waren. Die Zylinder wurden auf Glasnadeln aufgereiht und die Entfernung zwischen den Punkten mit Hilfe eines Horizontalmikroskops vor und 20 Std nach der Behandlung gemessen.

In den Versuchen, in denen eine große Reihe von PNA-Konzentrationen benutzt wurde, wurde das PNA als Natriumsalz zugegeben und die Lösungen mit K_2HPO_4 und KH_2PO_4 auf p_H 6,0 gepuffert. In anderen Versuchen wurde das PNA in kleinen Mengen von Aceton gelöst und mit Wasser verdünnt. Diese Lösungen wurden ebenfalls auf p_H 6,0 gepuffert.

Ergebnisse. Um Wuchsstoffaktivität im Zylindertest festzustellen, ist es nötig, wuchstofffreie Zylinder zu benutzen, und LEOPOLD (1954) behauptet, daß man solche Zylinder erhält, wenn man sie 4 Std in Wasser legt. Bei Benutzung von wuchsstofffreien Zylindern vermeidet man die Gefahr, Wuchsstoffaktivität mit Synergismus mit dem natürlichen Wuchsstoff zu verwechseln. Unsere Versuche wurden mit einer Serie frisch geschnittener Zylinder und einer Serie von Zylindern, die 4 Std in Wasser gelegen hatten, durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigt Abb. 1.

Konzentrationen von 1—100 ppm PNA ($=1:10^6$—$1:10^4$) stimulieren das Wachstum der frisch geschnittenen und der gewaschenen Zylinder; das Optimum liegt bei 1,0 ppm. Die gewaschenen Zylinder waren nach 4 Std noch nicht wuchsstofffrei, wie ihr späteres Wachstum zeigt, und es ist nicht möglich, in diesen Versuchen zwischen Synergismus und Wuchsstoffaktivität zu unterscheiden. Die Wirkung des PNA in anderen Versuchen (*Avena*-Krümmungstest und *Avena*-Zylindertest mit Agarwürfeln) zeigt aber, daß PNA ein schwacher Wuchsstoff ist.

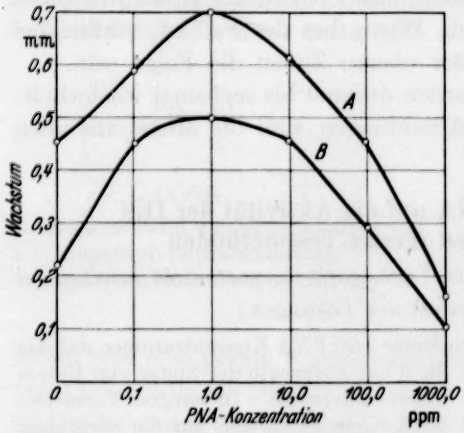


Abb. 1. Konzentrationswirkungskurve für den *Avena*-Zylindertest mit Lösungen: *A* Zylinder vor der Behandlung nicht im Wasser gewaschen, *B* Zylinder vor der Behandlung 4 Std im Wasser gewaschen, Wachstum in 20 Std. 1 ppm = 1 mg/l = $1:10^6$

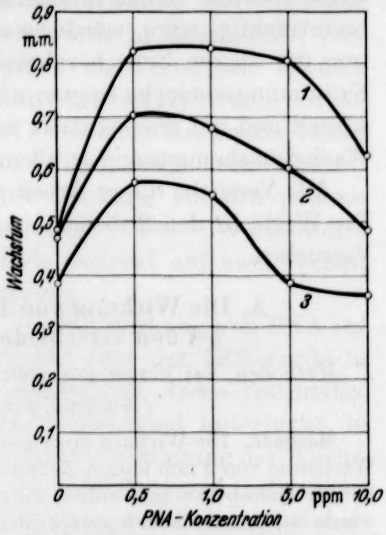


Abb. 2. Konzentrationswirkungskurven für den Zylindertest mit Lösungen: *1* Zylinder der Zone 1 (3 mm unterhalb der Spitze), *2* Zylinder der Zone 2 (6 mm unterhalb der Spitze), *3* Zylinder der Zone 3 (9 mm unterhalb der Spitze), Wachstum in 20 Std

Frühere Arbeiten mit PNA und anderen Phthalsäureamidderivaten haben verschiedenartige Ergebnisse über die Wuchsstoffeigenschaften dieser Substanzen gebracht. HOFFMAN und SMITH (1949) beschrieben Wuchsstoffwirkungen des PNA, wenn die Säure intakten Tomatenpflanzen verabreicht wurde. PNA ruft in der Konzentration von 0,1 ppm Blattrollen, bei 0,3 ppm Epinastie und bei 20 ppm Stengelanschwellungen hervor. LEOPOLD und GUERNSEY (1954) zeigten, daß N-Chlorphthalamidsäure in einer Konzentration von 0,01 und 0,1 ppm sich synergistisch mit 1 ppm IES im Erbsen-Zylindertest verhält, aber in den höheren Konzentrationen hemmend wirkt. NÉTIEN und CANILLOT (1951) fanden, daß PNA das Wachstum der Wurzel fördert. CHING, HAMILTON und BANDURSKI (1957) berichteten, daß PNA nur hemmend auf das Wachstum von *Avena*-Zylindern wirkt. Es ist nicht klar, warum in einigen Arbeiten keine Wuchsstoffeigenschaften für PNA gefunden werden

konnten; in unseren Versuchen gab es gar keinen Zweifel, daß PNA schwache Wuchsstoffeigenschaften zeigte.

Abb. 2 zeigt die Reaktion der Zylinder von den drei verschiedenen Zonen auf die Konzentrationen 0,5, 1, 5 und 10 ppm PNA. Alle Zonen werden durch 5 ppm und weniger stimuliert (mit Ausnahme von Zone 3 bei 5 ppm); die Stimulation ist bei Zone 1 am größten, bei Zone 3 am geringsten. 10 ppm fördert das Wachstum von Zone 2 und 3 nicht mehr.

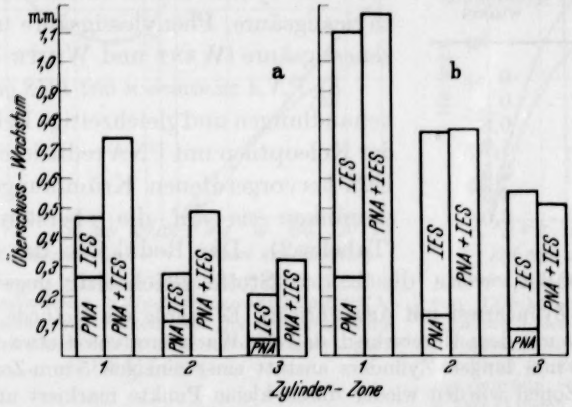


Abb. 3 a u. b. Wechselwirkung zwischen IES und PNA im Zylindertest mit Lösungen. a IES 0,1 ppm, PNA 5,0 ppm; b IES 1,0 ppm, PNA 5,0 ppm. Die Höhe der betreffenden Säulen gibt den Wachstumsüberschuß der Zylinder über den Kontrollwert an. Die beiden Säulen für PNA und IES sind zum besseren Vergleich mit der Wirkung des Gemisches IES + PNA übereinander gestellt

5 ppm PNA beeinträchtigt die fördernde Wirkung von 0,1 und 1,0 ppm IES nicht (Abb. 3). PNA verstärkt im Gegenteil die Wachstumsförderung, und zwar wirkt es mit 0,1 ppm IES stark synergistisch, mit 1,0 ppm IES nur etwa additiv. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von Ching, Hamilton und Bandurski (1957), die fanden, daß 10^{-5} PNA die IES-Aktivität hemmt. Wir haben in allen Versuchen nur eine Stimulation mit 5 ppm PNA bekommen.

II. Methoden, bei denen ein polarer Wuchsstofftransport beteiligt ist

1. Avena-Krümmungstest. Es wurde Södings Methode (1952) benutzt. Konzentrationen von 1—300 ppm PNA allein und 5 ppm PNA mit einer Reihe von IES-Konzentrationen wurden getestet. In den Versuchen über die Wechselwirkung von PNA und IES wurden zwei Methoden angewandt. 1. PNA und IES wurden gleichzeitig im selben Agarwürfel zugegeben und 2. die Koleoptilen wurden zuerst mit 5 ppm PNA für $1^1/_2$ Std und nachher mit 0,3 ppm IES für $2^1/_2$ Std versehen. In diesen Versuchen wurde nicht nur die Größe der Krümmungen gemessen, sondern auch die Tiefe, bis zu der sie abwärts reichten (Abb. 4).

a) PNA allein geboten. Tabelle 1 zeigt, daß PNA in höheren Konzentrationen kleine Krümmungen hervorruft, die aber knickartig und auf die obersten 3—4 mm beschränkt waren. Die Tatsache, daß PNA solche Krümmungen verursacht, zeigt, daß die Säure ein schwacher Wuchsstoff ist, der nicht schnell transportiert wird. Das Verhalten des PNA in diesem Test ist ähnlich dem der synthetischen Wuchsstoffe α-Naphthylessigsäure, Phenylessigsäure und Anthrazenessigsäure (WENT und WHITE 1939).

Tabelle 1. *Krümmungswinkel einer PNA-Konzentrationsreihe im Hafertest*

PNA-Konzentration (ppm)	Krümmungswinkel
0	0
1	0
10	0,8
50	1,7
100	2,5
200	4,3
300	7,0

b) PNA zusammen mit IES geboten. Vorbehandlungen und gleichzeitige Behandlungen der Koleoptilen mit PNA reduzieren die durch IES hervorgerufenen Krümmungen und beschränken sie auf die obersten 4—5 mm (Tabelle 2). Die Reduktion der Krümmungen war größer, wenn die beiden Stoffe gleichzeitig gegeben waren.

2. Avena-Zylindertest mit Agarwürfeln. Es wurde die Methode von SÖDING (1952) benutzt mit dem Unterschied, daß das Wachstum von 4 etwa 2 mm langen Zonen des 10 mm langen Zylinders anstatt einer einzigen 5 mm-Zone gemessen wurde. Die Zonen wurden wieder durch kleine Punkte markiert und mit Hilfe eines Horizontalmikroskops gemessen. Sie wurden von oben nach unten als Zone 1, 2, 3 und 4 bezeichnet.

Tabelle 2. *Krümmungswinkel auf IES + PNA-Zugabe*

A

IES + PNA (5 ppm) gleichzeitig gegeben

IES-Konzentration (ppm)	Krümmungswinkel	
	IES	IES + PNA
0,5	28,9	7,9
1,0	27,1	8,8
2,0	28,2	10,4
2,5	22,3	10,3
3,0	23,1	13,5

B

Vorbehandlung mit PNA (5 ppm), dann Behandlung mit IES (0,3 ppm)

Krümmungswinkel		Entfernung AB (mm)	
IES	IES + PNA	IES	IES + PNA
34,8	29,7	7,1	5,1

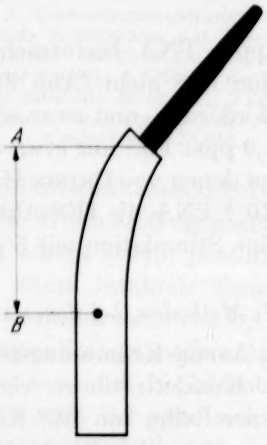


Abb. 4. Messung des Bereiches einer Krümmung (= *AB*)

Wenn die Wirkung einer PNA-Konzentrationsreihe untersucht wurde, wurden die Längen der Zonen am Anfang und am Ende der Versuche gemessen. Bei einer Konzentration (5 ppm), die allein oder zusammen mit 1 ppm IES zugegeben wurde, wurden die Messungen am Anfang des Versuches und nach 2, 4, 6 und 24 Std gemacht.

a) PNA allein gegeben. PNA reduziert in der Konzentrationsreihe 1—200 ppm den nach 24 Std gemessenen Zuwachs. Die erste Wirkung, die man beobachtet, ist aber eine *Stimulation* des Wachstums 4—6 Std nach der Zugabe von 5 ppm (Abb. 5). Die Bedeutung dieses Ergebnisses

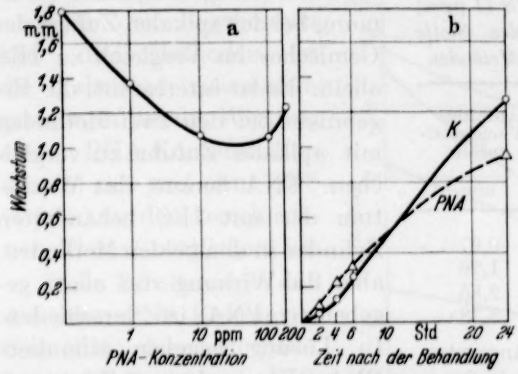


Abb. 5. a Konzentrationswirkungskurve für den Zylindertest mit Agarwürfeln, b Wachstumsreaktion auf PNA-Zusatz zu verschiedenen Zeiten nach der Behandlung im Zylindertest mit Agarwürfeln. ○ Kontrolle (reiner Agar), △ PNA 5 ppm

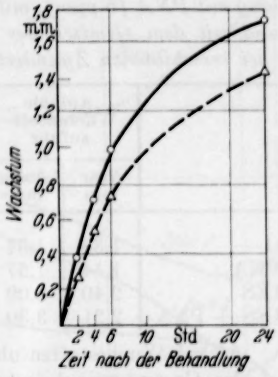


Abb. 6. Wachstumsreaktion von IES-behandelten Zylindern auf PNA-Zusatz zu verschiedenen Zeiten nach der Behandlung im Zylindertest mit Agarwürfeln. ○ IES (1 ppm), △ IES (1 ppm) + PNA (5 ppm)

soll später diskutiert werden, wenn das Wachstum der verschiedenen Zonen der Zylinder berücksichtigt wird. Es genügt jetzt, zu bemerken, daß PNA-Konzentrationen, die im Zylindertest als freie *Lösungen* das Wachstum fördern, es bei *dieser* Methode hemmen.

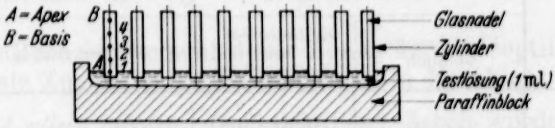


Abb. 7. Apparat für den Zylindertest bei apikaler Zugabe von Lösungen

b) PNA + IES. In einer Konzentration, die im Zylindertest mit Lösungen die IES-Aktivität fördert, hemmt PNA diese Aktivität bei der Agarmethode während der ganzen Dauer des Versuches (Abb. 6).

Die beschriebenen Versuche wurden zu verschiedenen Zeiten durchgeführt. Wir haben aber auch Versuche gemacht, in denen die PNA-Wirkung in den einzelnen Zylindertest-Methoden zur selben Zeit bestimmt wurde. In diesen Versuchen wurden 5 ppm PNA allein und in Kombination mit 1 ppm IES nach den beiden bereits beschriebenen Zylinder-Methoden sowie nach einer neuen Methode zugegeben. Bei der neuen Methode, deren Prinzip aus Abb. 7 zu ersehen ist, wurden die Wuchsstoffe in Lösung der Spitze der 10 mm langen Zylinder zugeführt.

Die Ergebnisse bestätigen, daß PNA je nach der Methode der Stoffzufuhr verschieden auf die IES-Aktivität wirkt (Tabelle 3). Die Reaktion der Zylinder bei den schon geschilderten Methoden war dieselbe wie früher, d. h. eine Stimulation bei der allseitigen und eine Hemmung bei der apikalen Zufuhr des Gemisches im Vergleich zu IES allein. Es ist interessant, die Ergebnisse bei den zwei Methoden mit apikaler Zufuhr zu vergleichen. PNA hemmt das Wachstum der mit IES behandelten Zylinder in den beiden Methoden, aber die Wirkung von allein gegebenem PNA ist verschieden. In Lösung gegeben stimuliert PNA, aber in Agarwürfeln zugeführt hemmt es. Dieser Unterschied der Reaktion beruht jedenfalls darauf, daß die Testzylinder bei den beiden Methoden verschiedene Mengen von PNA aufnehmen. Obgleich die zugegebene Konzentration in der Lösung und im Agarwürfel dieselbe ist, kann erwartet werden, daß mehr PNA in die Zylinder von der Lösung als vom Agarwürfel eindringen wird, weil die PNA-Menge pro Zylinder in der Lösung etwa 10mal größer ist und die Absorptionsfläche der Zylinder eben-

Tabelle 3. *Zylinderwachstum nach Behandlung mit PNA (5 ppm), mit IES (1 ppm) und mit dem Gemisch der beiden Stoffe bei verschiedenen Zylindertest-Methoden*

	Apikale Wuchsstoffzufuhr		Allseitige Wuchsstoffzufuhr
	Agar mm	Lösung mm	mm
O	1,38	1,31	0,97
PNA	1,14	1,57	1,76
IES	2,40	5,09	2,85
IES + PNA	2,21	3,30	3,78

Apikale Wuchsstoffzufuhr: Angegeben ist der Gesamtzuwachs von 4 je 2 mm langen Zonen jedes Testzylinders nach 24 Std.

Allseitige Wuchstoffzufuhr: Gesamtzunahme von 3 je etwa 2 mm langen markierten Zonen jedes Zylinders nach 24 Std.

Tabelle 4

	Behandlung		
	Methoden, bei denen eine polare Leitung der Stoffe beteiligt ist		Methoden, bei denen keine polare Leitung der Stoffe beteiligt ist
	Krümmungsversuch	Zylindertest mit Agarwürfeln	Zylindertest mit Lösungen
PNA (5 ppm)	keine Krümmung	Hemmung des Wachstums	Stimulation des Wachstums
PNA (5 ppm) + IES (1 ppm)	Reduktion der durch IES hervorgerufenen Krümmung	Hemmung des Wachstums im Vergleich zu IES	Stimulation des Wachstums im Vergleich zu IES

falls größer ist (die Zylinder tauchen etwa 2 mm tief in die Lösung ein). Eine höhere Konzentration in den Zylindern führt zu einer Stimulation des Wachstums, die mit der Förderung der Zylinder bei der Methode der allseitigen Zufuhr zu vergleichen ist.

Nach den Ergebnissen aller drei Methoden ist die Tabelle 4 zusammengestellt, in der die Wirkung einer PNA-Konzentration (5ppm) mit und ohne IES (1 ppm) in den verschiedenen Testen verglichen ist.

Diese Tabelle zeigt, daß dieselbe PNA-Konzentration bei einer Methode, bei der *kein* polarer IES-Transport zu den wachsenden Zellen notwendig ist, fördernd wirkt, aber bei den Methoden, die polare Wuchsstoffleitung in der Koleoptile erfordern, das Wachstum hemmt. Wie in der Einleitung erwähnt, deutet ein solcher Unterschied darauf hin, daß PNA die polare Leitung der IES irgendwie stört.

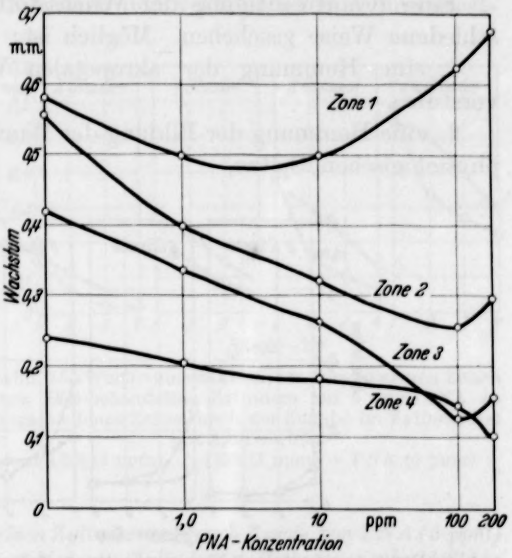


Abb. 8. Konzentrationswirkungskurven für die verschiedenen Zonen der 10 mm langen Zylinder beim Zylindertest mit Agarwürfeln. *Zone 1* = die oberste, *Zone 4* = die unterste Zone. Wachstum in 24 Std

B. Die Reaktion verschiedener Zonen der Koleoptilzylinder auf apikale Zugabe von PNA allein und in Kombination mit IES

a) PNA allein geboten. In Teil A dieser Arbeit wurde gezeigt, daß PNA-Konzentrationen von 1—200 ppm das Gesamtwachstum der Koleoptilzylinder im Zylindertest mit Agarwürfeln hemmen. Die Abb. 8 und 9 zeigen nun, wie diese Hemmung über vier 2 mm lange Zonen der Zylinder verteilt ist. Zone 2, 3 und 4 wurden bei allen Konzentrationen gehemmt, und die Reduktion des Wachstums nahm mit steigender Konzentration des PNA bis 100 ppm zu. Das Wachstum der obersten Zone 1 wurde am wenigsten gehemmt und erfuhr bei Konzentrationen von 100—200 ppm sogar eine Stimulation.

Die durch PNA hervorgerufenen Hemmungen lassen sich nur aus einer Wirkung auf die Lieferung von Wuchsstoff zu den wachsenden Zellen erklären, weil dieselben Konzentrationen nicht hemmend auf die biochemische Aktivität der IES im Zylindertest mit Lösungen wirken.

Aus den in der Einleitung diskutierten Gründen ist die Tatsache, daß die oberste Zone am wenigsten gehemmt ist, eine Stütze für diesen Schluß.

Eine Beeinträchtigung der Wuchsstoffbelieferung könnte auf verschiedene Weise geschehen. Möglich ist:

1. eine Hemmung der akropetalen Wanderung der Wuchsstoffvorstufe,

2. eine Hemmung der Bildung des Wuchsstoffes in der regenerierten physiologischen Spitze,

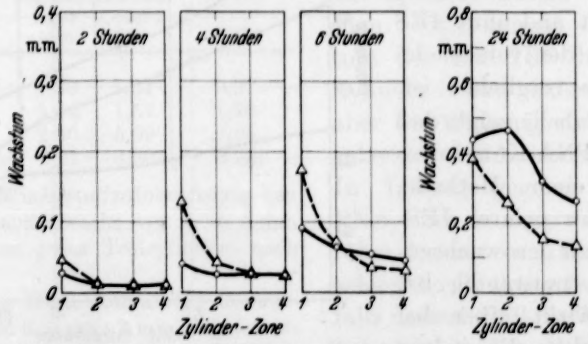


Abb. 9. Wachstumsreaktion der verschiedenen Zylinderzonen auf 5 ppm PNA zu verschiedenen Zeiten nach der Zugabe im Zylindertest mit Agarwürfeln. ○ Kontrolle, △ PNA

3. eine Hemmung der basipetalen Wanderung der Wuchsstoffe von der physiologischen Spitze aus.

Die Tatsache, daß die basipetale Leitung der IES durch PNA gestört ist, spricht für die größte Wahrscheinlichkeit von Wirkung 3.

Die Stimulation der obersten Zone durch hohe PNA-Konzentrationen zeigt noch einmal, daß PNA ein Wuchsstoff ist. Dieses Ergebnis bestätigt die Beobachtungen, die wir in den Krümmungsversuchen und im Zylindertest mit Lösungen gemacht haben. Die Stimulation erstreckt sich nicht weiter als in die erste Zone, wahrscheinlich, weil PNA schlecht transportiert wird.

Die Untersuchung der Reaktion der einzelnen Zonen zu verschiedenen Zeiten zeigt, daß die erste Wirkung des PNA eine Stimulation des Wachstums von Zone 1 ist (Abb. 9). Hinterher aber hemmt PNA das Wachstum aller Zonen. (In anderen Versuchen blieb die Stimulation von Zone 1 auch nach 24 Std erhalten — vgl. Tabelle 5.)

b) PNA und IES. PNA (5 ppm) reduziert die durch IES (1 ppm) hervorgerufene Wachstumsförderung der Zylinder. Abb. 10 zeigt, wie die Hemmungswirkung des PNA verteilt ist. Sie ist auf die untersten 6—7 mm der Zylinder beschränkt; die obersten 2—3 mm werden durch eine PNA-Gabe stimuliert. In der Einleitung dieser Arbeit ist schon

darauf hingewiesen worden, daß eine solche Reaktion sich nur aus einer Wirkung des PNA auf die IES-Leitung erklären läßt.

Im vorhergehenden Teil dieser Arbeit haben wir Versuche beschrieben, in denen die Wirkung von PNA nach den verschiedenen Zylindertest-Methoden in gleichzeitigen Versuchen geprüft wurde. In diesen Versuchen wurde auch das Wachstum der verschiedenen Zonen untersucht; die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt. Die PNA-Wirkung in den verschiedenen Versuchen mit Lösungen und Agarwürfeln ist dieselbe, wie oben bereits für Beobachtungen zu verschiedenen Zeiten

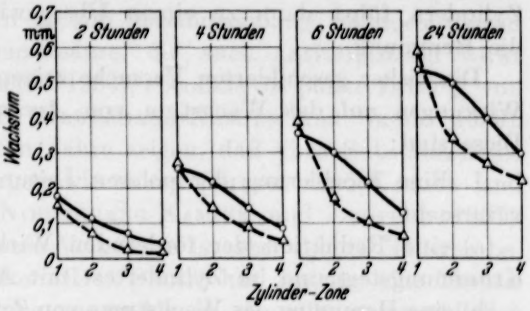


Abb. 10. Wachstumsreaktion der verschiedenen Zonen von IES-behandelten Zylindern auf 5 ppm PNA zu verschiedenen Zeiten nach der Zugabe im Zylindertest mit Agarwürfeln.
○ IES (1 ppm), △ IES (1 ppm) + PNA (5 ppm)

Tabelle 5. *Das Wachstum der einzelnen Zylinderzonen nach Zugabe von PNA (5 ppm) und IES (1 ppm) bei den verschiedenen Zylindertest-Methoden nach 24 Std*

Methode	Behandlung	Zone 1 mm	Zone 2 mm	Zone 3 mm	Zone 4 mm	Gesamtwachstum mm
Zylindertest mit Agarwürfeln	O	0,36	0,37	0,33	0,33	1,38
	PNA	0,41	0,25	0,23	0,25	1,14
	IES	0,80	0,71	0,50	0,40	2,40
	PNA + IES	0,86	0,53	0,45	0,37	2,21
Zylindertest mit apikaler Lösung	O	0,40	0,38	0,29	0,23	1,31
	PNA	0,65	0,48	0,25	0,18	1,57
	IES	1,55	1,54	1,22	0,78	5,09
	PNA + IES	1,67	0,79	0,50	0,35	3,32
Zylindertest mit allseitiger Lösung	O	0,32	0,33	0,32		0,97
	PNA	0,63	0,60	0,52		1,76
	IES	1,09	0,94	0,82		2,85
	PNA + IES	1,34	1,22	1,22		3,78

geschildert wurde. Der Effekt von PNA auf mit IES behandelte Zylinder bei den Methoden mit apikaler Zufuhr ist derselbe, einerlei, ob die Substanz in Agarwürfeln oder in Lösungen zugegeben wird. Es erfolgt eine Stimulation von Zone 1, aber eine Hemmung der anderen Zonen. PNA *allein* wirkt bei apikaler Zugabe verschieden auf das Wachstum, je nachdem ob die Substanz in Agarwürfeln oder in Lösung zugegeben wird. Bei der Agar-Methode hemmt PNA das Wachstum *aller*

Zonen (Abb. 9), oder es ist nur die *oberste* Zone gefördert (Tabelle 5); in der Lösung werden dagegen die obersten *zwei* Zonen stimuliert und nur die untersten ein wenig gehemmt. Wie wir schon diskutiert haben, ist es sehr wahrscheinlich, daß von der Lösung mehr PNA in die Zylinder eindringt als von den Agarwürfeln; die größere Menge in den Zylindern führt dann zu einem Übergewicht von Stimulation über die Hemmung.

Die bisher geschilderten Versuche zeigen, daß PNA zwei deutliche Wirkungen auf das Wachstum von *Avena*-Koleoptilen haben kann. Diese sind:

1. Eine Blockierung der polaren Leitung der IES. Dieser Effekt verursacht

a) eine Reduktion der fördernden Wirkung von IES im *Avena*-Krümmungstest und im Zylindertest mit Agarwürfeln und

b) eine Hemmung des Wachstums von Zylindern, denen apikal PNA in Agarwürfeln zugegeben wird.

2. Eine Stimulation des Wachstums. Dieser Effekt verursacht

a) die Entstehung von schwachen Krümmungen im *Avena*-Krümmungstest bei höheren PNA-Konzentrationen und

b) die Stimulation des Wachstums von Zylindern, die größere PNA-Mengen erhalten haben, z. B. im Test mit allseitiger Lösungszufuhr bei Konzentrationen von 1—100 ppm, im Test mit Agarwürfeln für die obersten 2—3 mm bei Konzentrationen von 100—200 ppm PNA und im Test mit apikaler Lösung für die obersten 4—5 mm bei 5 ppm PNA.

Diskussion

Im allgemeinen wird angenommen, daß die Entstehung von tropistischen Krümmungen in 3 Schritten vor sich geht. Diese sind:

1. eine Querverschiebung des Wuchsstoffes in der Spitze des gereizten Pflanzenorgans,

2. die polare Leitung des auf *einer* Seite angesammelten Wuchsstoffes von der Spitze nach der Basis und

3. eine Stimulation oder Hemmung des Wachstums dieser Seite durch den Wuchsstoff.

Eine Interferenz mit irgendeinem dieser Vorgänge würde zu einer Reduktion oder Elimination der Krümmung führen, und die Ergebnisse unserer Arbeit deuten ziemlich klar darauf hin, welcher Vorgang durch PNA beeinflußt wird, wenn diese Substanz antitropistisch wirkt. Wir haben in unseren Versuchen mit *Avena*-Koleoptilen gefunden, daß eine PNA-Konzentration von 5 ppm [diese Konzentration wirkt antitropistisch — JONES, METCALFE und SEXTON (1954)] das Längenwachstum nicht hemmt, aber die polare Leitung von IES blockiert. Auch einige

weitere Substanzen reduzieren die tropistischen Krümmungen, ohne das Wachstum zu hemmen (JONES, METCALFE und SEXTON, BRUMFIELD 1955, MORGAN, unveröffentlicht). Wahrscheinlich kommt die antitropistische Wirksamkeit aller dieser Stoffe durch Störung der polaren Wuchstoffleitung, vielleicht außerdem auch der Wuchsstoffquerverschiebung(?), zustande. In diesem Zusammenhang sei noch darauf hingewiesen, daß Trijodbenzoësäure, die auch antitropistisch wirkt (JONES, METCALFE und SEXTON 1954), ebenfalls die polare Leitung von IES blockiert (KUSE 1954, NIEDERGANG-KAMIEN und SKOOG 1956). Mehrere Arbeiten der letzten Jahre zeigen, daß viele Substanzen die polare Wuchsstoffleitung irgendwie stören (NIEDERGANG-KAMIEN und SKOOG 1956, HAY 1956, NIEDERGANG-KAMIEN und LEOPOLD 1957). Über den Mechanismus dieses Vorganges ist aber nichts Näheres bekannt. Ein Physiko-Chemiker (R. C. BRIAN) hat uns nun eine Theorie zur Erklärung dieser Wirkung vorgeschlagen, der wir uns anschließen möchten.

Wenn man annimmt, daß die Transportkanäle für den Wuchsstoff wenigstens stellenweise sehr eng sind, so könnte ein schneller Transport durch diese Zone sehr wohl von einem Oberflächen-Diffusions-Mechanismus abhängig sein, wie ihn DANIELLI (1954) angenommen hat. Danach ist die Adsorption ein dynamischer Prozeß, d. i. die Moleküle werden ständig adsorbiert und desorbiert, und die transportierten Moleküle kommen von einer Adsorptionsstelle zur nächsten. Auch die bekannten physikalischen Kräfte können hierbei beteiligt sein. Ein derartiger Transportmechanismus setzt nun voraus, daß die Moleküle auch nicht *zu* fest adsorbiert werden. Vermutlich wird nun PNA, das übrigens auch an ein Amin mit langer Seitenkette ($C_{24}H_{49}NH_3^+Cl^-$ — BRIAN, unveröffentlicht) sehr stark adsorbiert wird, von den Plasmagrenzflächen ebenfalls stark gebunden, vor allem von den NH_2- und den Peptid-Gruppen der Proteine, und kann daher durch die Oberflächendiffusion nur schlecht transportiert werden. Wenn PNA nun die Adsorptionsstellen bereits besetzt hat, könnte es dadurch auch die Oberflächendiffusion von IES und anderen Wuchsstoffen blockieren.

Wie unsere Arbeit zeigt, sind Testmethoden, bei denen eine polare Leitung der Wuchsstoffe für eine Wachstumsförderung notwendig ist, nicht geeignet, um die Wirksamkeit einer Substanz als Auxin oder Antiauxin zu prüfen. Bei einem Wuchsstoff ist es möglich, daß er nicht gut transportiert wird und daher keine Wachstumsförderung auslösen kann, z. B. PNA in Konzentrationen von weniger als 50 ppm. Andererseits kann ein Stoff die Aktivität der IES nicht nur durch einen Effekt auf die biochemische Aktivität des Wuchsstoffes bei der Zellstreckung hemmen, sondern auch durch eine Blockierung der polaren Leitung der IES; dies scheint bei PNA und Trijodbenzoësäure der Fall zu sein.

ABERG (1957) hat gezeigt, daß einige Wuchsstoffe — monosubstituierte Phenoxyessigsäuren — als Lösungen in schwachen Konzentrationen das Wachstum von 10 mm langen Koleoptilzylindern hemmen. Sie verhalten sich ähnlich wie PNA in unseren Versuchen, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß sie auf dieselbe Weise die Hemmung hervorrufen, nämlich durch Blockierung der polaren Leitung des natürlichen Wuchsstoffes von der physiologischen Spitze zu den sich streckenden Zellen. Die Konzentration des synthetischen schwachen Wuchsstoffes ist dann nicht hoch genug, um den Mangel an natürlichem Wuchsstoff für die Streckung der Zellen auszugleichen. Erst bei höheren Konzentrationen setzt sich dann die Wuchstoffwirkung dieser Phenoxyessigsäuren durch, und zwar um so eher, je „stärker" der betreffende Wuchsstoff ist.

Summary

1. The effect of α-naphthylphthalamic acid (NPA) and its interaction with indolylacetic acid (IAA) in different *Avena* coleoptile test methods has been studied. The methods used were of two classes: a) those in which test substances reach the elongating cells primarily by lateral transport — *Avena Section Test (Solution Immersion Method)* where 3 mm sections are immersed in test solutions, and b) those where transport is primarily polar — *Avena Section Test (Terminal Application Method)* where 10 mm sections are treated apically and the *Avena Curvature Test*.

2. In the Solution Immersion Section Test Method (S.I.M) NPA promoted coleoptile growth both when applied alone (1—100 ppm) and with IAA (0,1 and 1,0 ppm IAA with 5,0 ppm NPA). Similar treatments in the Terminal Application Method (T.A.M.) inhibited growth. The difference in section response in the two methods points to an interference with polar auxin transport by NPA in the T.A.M.

3. Additional evidence that NPA is a growth promoter which also interferes with polar auxin transport was obtained in the *Avena* Curvature Test and also in the T.A.M. during the study of the growth of four 2 mm-regions of the 10 mm-sections, 2, 4, 6, and 24 hours after treatment. Growth promotion was shown in the *Avena* Curvature Test when NPA applied alone at high concentrations (50—300 ppm) produced small curvatures, and in the T.A.M. when NPA at 100 and 200 ppm in agar stimulated the uppermost 2—3 mms, and at 5 ppm in solution the upper 5 mms of the section. An interference with IAA transport was inferred (a) in the *Avena* Curvature Test when NPA concentrations which promoted IAA activity in the S.I.M. reduced the curvature response to IAA and (b) in the T.A.M. when the inhibition of growth of IAA-treated sections by NPA was confined to the lower 7 mms of

the section throughout the period after treatment and the upper 3 mms showed some stimulation.

4. The possible significance of these results in interpreting the interference by NPA with the geotropic and phototropic responses of roots and shoots is discussed.

5. A theory is put forward to explain the mechanism by which NPA could block IAA transport.

Literatur

ABERG, B.: Studies on plant growth regulators. XII Monosubstituted phenoxyacetic acids. Kgl. Lantbrukshögskolans Ann. **23**, 376—392 (1957). — BOAS, F., u. F. MERKENSCHLAGER: Reizverlust, hervorgerufen durch Eosin. Ber. dtsch. bot. Ges. **43**, 381—390 (1925). — BOYSEN JENSEN, P.: Über Wuchsstoff in Wurzeln, die mit Erythrosin vergiftet sind. Planta (Berl.) **22**, 404—410 (1934). — BRUMFIELD, R. T.: The inhibition of curvatures in timothy roots by certain chemicals. Amer. J. Bot. **42**, 958—964 (1955). — CHING, T. M. T., R. H. HAMILTON and R. S. BANDURSKI: Selective inhibition of the geotropic response by N-1-Naphthylphthalamic acid. Physiol. Plantarum (Cph.) **9**, 546—558 (1956). — DANIELLI, J. F. D.: Morphological and molecular aspects of active transport. Soc. exp. Biol. Symposia No 8, Active Transport and Secretion, p. 502—515, 1954. — HAY, J. R.: The effect of 2,4-dichlorphenoxyacetic acid and 2,3,5-triiodobenzoic acid on the transport of indoleacetic acid. Plant Physiol. **31**, 118—120 (1956). — HOFFMAN, O. L., and A. E. SMITH: A new group of plant growth regulators. Science **109**, 588 (1949). — JONES, R. L., T. P. METCALFE and W. A. SEXTON: The relationship between the constitution and the effect of chemical compounds on plant growth. J. Sci. Food Agric. **5**, 32—47 (1954). — KUSE, G.: Bud inhibition and correlative growth of petiole in sweet potato stem. Mem. Coll. Sci. Kyoto, Ser. B. **21**, 107—114 (1954). — LEOPOLD, A. C.: Auxins and plant growth. Berkeley and Los Angeles: University California Press 1955. — LEOPOLD, A. C., u. F. S. GUERNSEY: Unveröffentlicht, angegeben bei LEOPOLD 1955 S. 164 — MENTZER, C., D. MOHLO and H. PACHECO: Relation between chemical structure and inhibition of plant tropisms. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **32**, 572—582 (1950). — Chem. Abstr. **45**, 3462c (1951). — NÉTIEN, G., and R. CANILLOT: Action of α-naphthylphthalamic acid upon the germination and the first stages of growth of plants. Bull. mens. Soc. linnéene Lyon **20**, 49—52 (1951). — Chem. Abstr. **45**, 9621g (1951). — NIEDERGANG-KAMIEN, E., and A. C. LEOPOLD: Inhibitors of polar auxin transport. Physiol. Plantarum **10**, 29—38 (1957). — NIEDERGANG-KAMIEN, E., and F. SKOOG: Studies on polarity and auxin transport in plants. I. Modification of polarity and auxin transport by triiodobenzoic acid. Physiol. Plantarum (Cph.) **9**, 60—73 (1956). — SÖDING, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952. — WENT, F. W., and R. WHITE: Experiments on the transport of auxin. Bot. Gaz. **100**, 465—484 (1939).

Dr. G. MORGAN, Jealott's Hill Research Station,
Bracknell, England

Prof. Dr. H. SÖDING, Staatsinstitut für allgemeine Botanik,
Hamburg 36, Junguisstraße 6

Planta, Bd. 52, S. 250—258 (1958)

From the Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena, California, USA

THE ROLE OF GIBBERELLIN IN THE CONTROL OF PEA GROWTH BY TEMPERATURE

By

JAMES A. LOCKHART

With 4 Figures in the text

(Eingegangen am 7. Juli 1958)

Gibberellic acid has recently come to be recognized as an important means of regulating plant growth. Furthermore, the available evidence indicates that natural analogues of this compound participate as hormones, controlling stem growth in higher plants (PHINNEY et al. 1957, RADLEY 1956, LOCKHART 1957). It is of considerable interest, therefore, to determine which (if any) environmental factors may control plant growth specifically through the mediation of this hormone. As one approach to this problem, the growth of Alaska pea plants has been studied as a function of temperature in the Earhart Plant Research Laboratory.

With various species it has been found that gibberellic acid can replace the long-day requirement for flowering (LANG 1957, LONA 1956, WITTWER and BUKOVAC 1957, etc.) and vegetative growth (LONA 1957, LOCKHART and BONNER 1957), as well as the vernalization requirement for flowering (LANG 1956, WITTWER and BUKOVAC 1957). Application of gibberellic acid has been reported to induce premature resumption of spring growth in various grass species (LEBEN and BARTON 1957, WITTWER et al. 1957). Gibberellic acid, then, is active in the control of certain thermal- and light-controlled inductive processes in plants. The application of gibberellic acid has also been found to reverse the light inhibition of stem elongation in certain species (LOCKHART 1956, 1958, LONA and BOCCHI 1956, VLITOS and MEUDT 1957).

Methods

The experiments reported here were carried out in the Earhart Plant Research Laboratory, which has been described in detail elsewhere (WENT 1950, 1957).

The Alaska pea (Ferry-Morse Seed Co., Los Angeles) is a fastgrowing pole type, grown in the field in the early spring. When grown in complete darkness, this variety shows no response to applied gibberellic acid,

indicating that this plant is saturated with respect to its natural gibberellin under these conditions (LOCKHART 1956).

The seeds were planted in a moistened mixture of vermiculite and crushed rock (2:1), after soaking for 6 hours in deionized water. They were germinated in a 26° darkroom for 4—5 days in plastic pots. Uniform plants were then selected, the first gibberellic acid treatment was given and they were moved to the appropriate temperature rooms.

Experimental Results

The effect of temperatures and gibberellic acid on greenhouse-grown peas. In order to test for a possible interaction, plants were grown in greenhouses at various temperatures and treated with various concentrations of gibberellic acid.

On the fourth day after planting two plants were selected per pot and the first gibberellic acid treatment was given. A single drop of a 10% ethanol solution of gibberellic acid was applied to the growing point of each plant, and the treatments were repeated weekly. The solutions were of three concentrations, giving doses of 0.4, 4.0 and 40 μg. per plant at each treatment. Immediately following the first treatment the plants were transferred to the appropriate temperature-controlled greenhouses, where they remained for the duration of the experiment. The greenhouses are illuminated by solar radiation supplemented in the evening by incandescent light to give a 16-hour photoperiod. The experiment reported here was begun April 26 and harvested June 30, 1957, so that solar radiation was high throughout the growth period. Sixteen plants were used per treatment, and the plants were measured at weekly intervals. Temperatures are expressed as (day temperature–night temperature).

The influence of gibberellic acid on the growth rate of Alaska pea plants at various temperatures is illustrated in Fig. 1. As has been previously observed (WENT 1957), the early growth of the seedlings is most rapid at the higher temperatures. Within 3—4 weeks after planting, however, those at the lower temperatures have overtaken the high-temperature plants and continue an essentially linear, rapid growth rate until they approach maturity. At the higher temperatures the growth rate declines after the rapid seedling growth period, and maturation occurs much sooner than at lower temperatures.

In the experiments described here three distinct "phases" of growth may be observed: 1. germination and early seedling growth of about two weeks' duration, 2. rapid vegetative growth which continues until 3. maturation, the cessation of growth which is terminated by the death of the plants. Gibberellic acid treatment promotes the early growth of the seedlings at all temperatures. It apparently enables the plants to attain their maximum growth rate sooner after germination. During the rapid, vegetative growth period at the lower temperatures the applied gibberellic acid has no apparent effect on the rate of growth. Gibberellic acid does, however, significantly delay the onset of maturity. Plants at higher temperatures, when treated with gibberellic acid, grow nearly

as rapidly as those at lower temperatures. The heights of treated plants growing at the various temperatures is, in fact, almost equal until the onset of maturity results in a retardation of growth of the high tempe-

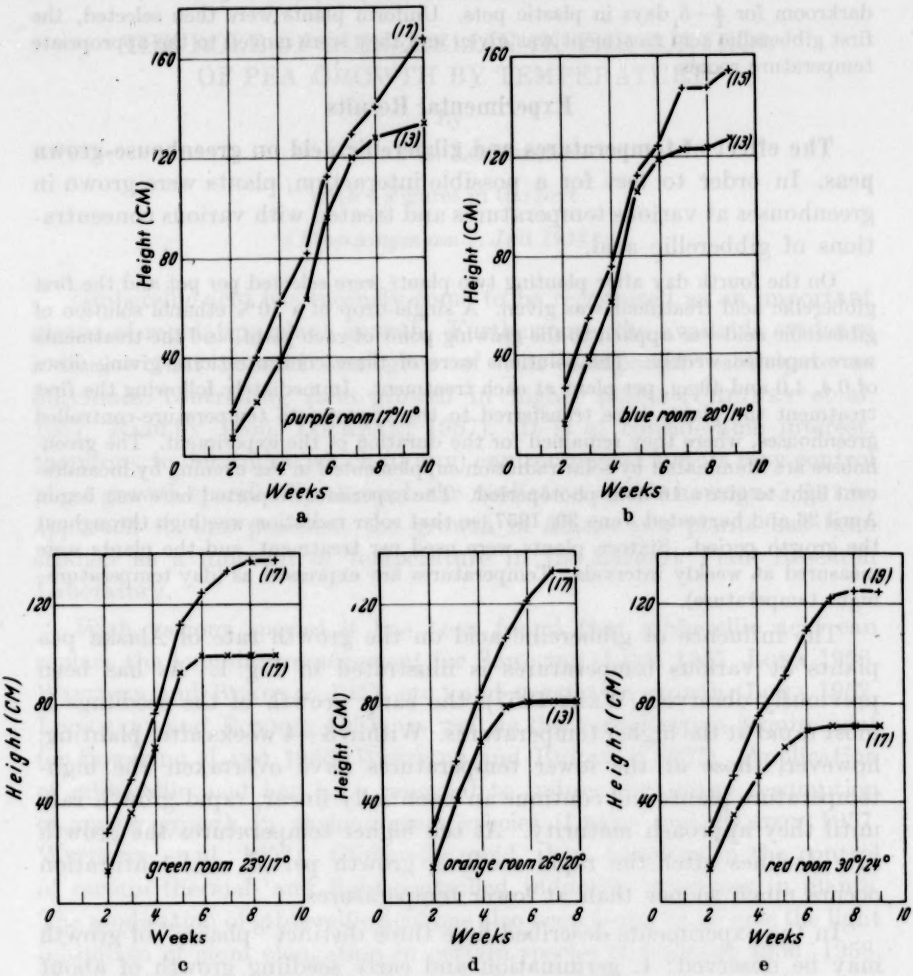


Fig. 1a—e. The growth rate of Alaska peas growing under different temperatures. Untreated plants (×) are compared with those which received weekly treatments with gibberellic acid (+). The numbers in parentheses indicate the average number of nodes per plant

rature plants. At high, as at low temperatures, the onset of maturity is delayed but not prevented by gibberellic acid treatment.

There was no measurable effect of concentration of gibberellic acid on stem growth, indicating that the weekly treatments even at the lowest doses were saturating for stem elongation. This saturation effect

is comparable to that observed by BRIAN and HEMMING (1955). The responses at all concentrations were lumped to give the gibberellic acid measurements reported in Fig. 1.

While the concentrations of gibberellic acid applied in the present experiment resulted in equal growth responses (measured as stem length), the effect on fresh and dry weight accumulation was markedly dependent on the amount of gibberellic acid applied. It may be seen (Fig. 2) that, in general, treatment with gibberellic acid tends to promote fruit development at higher temperatures (particularly 23° and 26°) while at lower temperatures it is inhibitory, especially the higher concentrations. The lower the temperature, the lower the concentration required to give inhibition. The higher temperatures (e.g. 30°/24° and 26°/20°) are far above the optimum for fruit formation in peas. Here the gibberellic acid increases fruit production as much as twofold, but this increase is clearly minor compared to the increases in fruit weight gained by growing the plants at lower temperatures. The dry weights are presented in Table 1. They follow the same trends observed for fresh weight, except that fruit weight is depressed by gibberellic acid at all temperatures.

The plants were all harvested at one time, before the treated plants at 17°/11° were completely

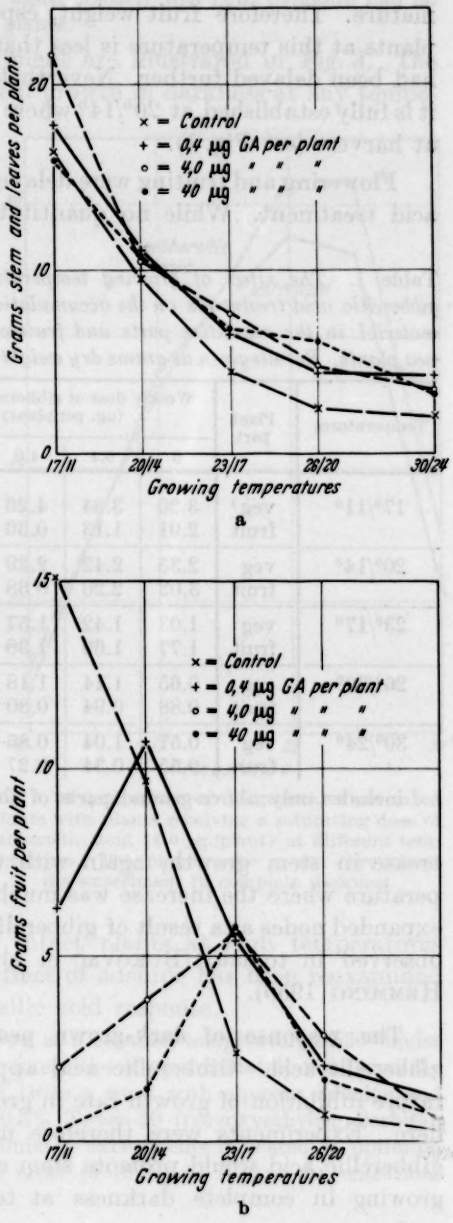


Fig. 2a and b. The effect of treatment with gibberellic acid on the final fresh weight of the stems and leaves (a) and the fruit (b) at various growing temperatures. The numbers opposite the curves indicate the weekly doses of gibberellic acid per plant

mature. Therefore fruit weight, especially dry weight, of the treated plants at this temperature is less than might be expected if the harvest had been delayed further. Nevertheless, the trend appears clear, since it is fully established at 20°/14° where the plants were essentially mature at harvest (see Fig. 1).

Flowering and fruiting were delayed at all temperatures by gibberellic acid treatment. While no quantitative data are available this delay appears to correlate with the delay in maturity as measured by stem growth.

Table 1. *The effect of growing temperatures and gibberellic acid treatments on the accumulation of dry material in the vegetative parts and fruit of Alaska pea plants. Results given as grams dry weight per plant*

Temperatures	Plant part	Weekly dose of gibberellic acid (µg. per plant)			
		0	0,4	4,0	40
17°/11°	veg[1]	3.20	3.84	4.26	3.31
	fruit	2.91	1.13	0.36	0.08
20°/14°	veg	2.35	2.42	2.29	2.25
	fruit	3.02	2.20	0.68	0.36
23°/17°	veg	1.03	1.42	1.57	1.57
	fruit	1.77	1.69	1.30	0.98
26°/20°	veg	0.65	1.14	1.18	2.06
	fruit	0.88	0.94	0.80	0.45
30°/24°	veg	0.57	1.04	0.85	0.84
	fruit	0.55	0.34	0.27	0.20

[1] includes only above-ground parts of the plant.

The number of expanded nodes per plant was found to be approximately constant with temperature, except at the 30°/24° treatment, where it was greater, in spite of the fact that the stems were much shorter at this temperature. Gibberellic acid appeared to increase the number of expanded nodes approximately in proportion to the increase in stem growth, again with the exception of the highest temperature where the increase was much less. An increase in the number of expanded nodes as a result of gibberellic acid treatment has already been observed in tomato (BUKOVAC et al. 1957) and in peas (BRIAN and HEMMING 1955).

The response of dark-grown pea seedlings to temperature and gibberellic acid. Gibberellic acid appeared to reverse the high temperature inhibition of growth rate in greenhouse-grown plants as reported here. Experiments were therefore undertaken to determine whether gibberellic acid would promote stem elongation of Alaska pea seedlings growing in complete darkness at temperatures above or below the optimum.

Plants were germinated at the experimental temperatures and when they appeared above the surface of the growing medium (4—7 days), uniform plants were selected and treated with gibberellic acid in ethanol (4.0 µg./plant). The plants were measured 13 days after planting. The plants were grown in light-tight boxes which were opened during the experiment—for the gibberellic acid treatment and

watering—only in low intensity green light. Clearly this light exposure had no significant effect on the growth of the plants.

The results of a typical experiment are illustrated in Fig. 3. The gibberellic acid has no effect on stem growth in darkness at any temperature between 10° and 30°. When the plants are germinated at 26° until the gibberellic acid treatment and then moved to the various temperature rooms the same response is observed. It is clear, then, that in spite of the observation that gibberellic acid promotes stem growth of greenhouse-grown plants at high temperatures, this is not a simple reversal of the inhibitory effects of superoptimum temperatures.

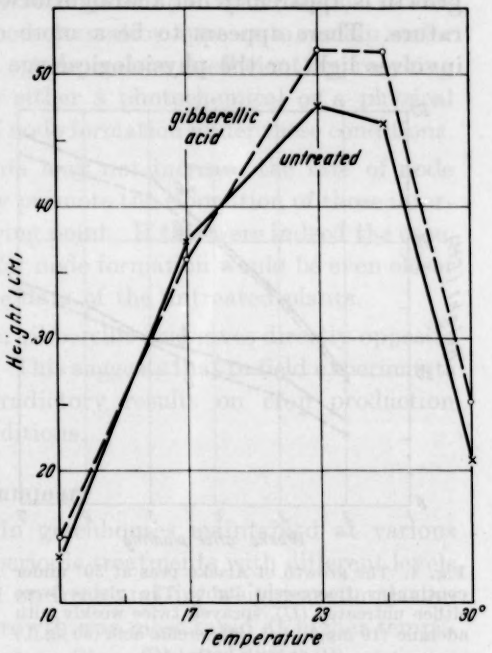


Fig. 3. A comparison of the growth of untreated plants with plants receiving a saturating dose of gibberellic acid (4.0 μg./plant) at different temperatures. The plants were grown throughout the experiment in complete darkness

The effect of adenine and gibberellic acid on pea stem growth at high temperatures. It has been reported that the addition of adenine to the culture solution will prevent high temperature injury to Alaska pea stem sections (GALSTON and HAND 1949). In other experiments adenine appeared to promote growth of intact plants at high temperatures (GALSTON 1957). Therefore, the effect of adenine has been reexamined here and compared to the gibberellic acid response.

Pea seeds were germinated and grown at a constant temperature of 30° under continuous fluorescent light which gave intensities of approximately 800 f.c. at the plant level. The plants were sprayed twice a week with aqueous adenine and gibberellic acid solutions, containing 0.5% Tween-20 (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) as a wetting agent. Preliminary experiments indicated an optimum concentration of adenine to be of the order of 10 mg./l. Higher concentrations appeared to be inhibitory.

The growth rates found in a typical experiment are illustrated in Fig. 4. Gibberellic acid markedly promotes growth, while adenine has no apparent effect. In combination with gibberellic acid, adenine has no influence on the gibberellic acid-induced growth rate or on the onset of maturity.

Discussion

The promotion of early seedling growth by gibberellic acid treatment undoubtedly represents a reversal of the light-inhibition of stem elongation previously reported (LOCKHART 1956). The increase of later stem growth is apparently not a straightforward interaction with high temperature. There appears to be a more complex relationship which also involves light or the physiological age of the plants.

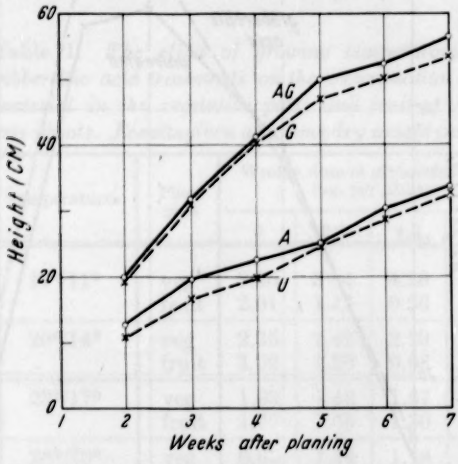


Fig. 4. The growth of Alaska peas at 30° under continuous fluorescent light. The plants were either untreated (*U*), sprayed twice weekly with adenine (10 mg./l.) (*A*), gibberellic acid (50 µg./l.) (*G*) or with both (*AG*)

It might be suggested that light inhibition of stem growth is continuous at high temperatures. Results to be reported elsewhere demonstrate, however, that near the optimum temperature for growth, light inhibition of stem growth in Alaska peas is only transient (LOCKHART, unpublished). At high temperatures, for example, the natural gibberellin of the pea seedling might be more labile or less readily synthesised, in light, than at the optimum temperature. On the other hand, the results with the dark-grown seedlings might not be applicable here. The mechanism of stem growth inhibition by high temperature might be completely different in the seedlings as compared to the vegetative growth of the older plants. This is supported by the observation here and elsewhere (WENT 1957) that the temperature coefficient for stem elongation during seedling growth is high, while the Q_{10} for later vegetative growth approaches unity. The evidence appears strong, nevertheless, that the rate of stem elongation at superoptimum temperatures, in light, is limited at least in part by the lack of available natural gibberellin.

The onset of maturity, indicated by the cessation of stem elongation, is delayed by continuing applications of gibberellic acid. Presumably, then, this effect represents a rather indirect action, and the mechanism which controls the onset of maturity in the pea remains unknown. Applied adenine has no effect on stem growth or on the onset of maturity under the conditions reported here.

The number of expanded nodes, determined in the greenhouse experiments, was constant with temperature (Q_{10} = ca. 1) except at the

highest temperature used. This confirms the observations reported by WENT (1957). The rate of node formation in the pea (per unit time) has already been shown to be independent of the rate of stem growth and controlled independently by a photochemical process (LOCKHART 1956), presumably by the red:far-red pigment system (cf. WENT 1941). In this experiment, with light constant, node formation appears to remain under the control of some process with a temperature coefficient approaching unity. This would indicate that either a photochemical or a physical process was controlling the rate of node formation under these conditions.

The gibberellic acid treatments may not increase the rate of node formation but may instead simply promote the elongation of those internodes already present in the growing point. If this were indeed the case, then the temperature coefficient for node formation would be even closer to unity than it appears from the data of the untreated plants.

Under different climates, then, gibberellic acid gives directly opposite effects, especially on fruit weight. This suggests that in field experiments gibberellic acid may give contradictory results on crop production depending on the prevailing conditions.

Summary

a) Alaska peas were grown in greenhouses maintained at various temperatures, and the effects of periodic treatments with different levels of gibberellic acid on growth and on fresh and dry weight accumulation were measured. Early seedling growth was most rapid at higher temperatures. Gibberellic acid promoted seedling growth at all temperatures.

b) Later vegetative growth was most rapid at the lower temperatures. At low temperatures gibberellic acid did not increase the growth rate during this stage, but it did increase growth at high temperatures to a rate approaching that attained at the lower temperatures.

c) Gibberellic acid delayed but did not prevent the onset of maturity.

d) In complete darkness seedling growth was not influenced by gibberellic acid at any temperature from 10^0 to 30^0.

e) Adenine had no significant effect on stem growth or on the onset of maturity at 30^0 under fluorescent light.

f) Gibberellin controls pea seedling growth in response to light but not with respect to temperature. Gibberellin participates in the control of stem growth of older plants, limiting growth in light at high temperatures. It affects but does not control the onset of maturity in these plants.

Acknowledgements. The author wishes to acknowledge the cordial cooperation of Professor FRITS W. WENT and the entire staff of the Earhart Plant Research Laboratory, and the technical assistance of Mrs. RENATA BRACHT and Miss VIRGINIA GOTTSCHALL with the experiments reported here.

The research reported here was supported in part by the Herman Frasch Foundation and in part by the Rockefeller Foundation.

The gibberellic acid was obtained through the courtesy of Merck, Inc., Rahway, New Jersey and Eli Lilly Co., Indianapolis, Indiana.

Literature cited

BRIAN, P. W., and H. G. HEMMING: The effect of gibberellic acid on shoot growth of pea seedlings. Physiol. Plantarum (Cph.) 8, 669—681 (1955). — BUKOVAC, M. J., S. H. WITTWER and F. G. TEUBNER: Gibberellin and higher plants. VII. Flower formation in the tomato. Mich. Agric. exp. St. Quart. Bull. **40**, 207—214 (1957). — GALSTON, A. W.: In: Experimental Control of Plant Growth by F. W. WENT, p. 313—317. Waltham, Mass.: Chronica Botanica Co. 1957. — GALSTON, A. W., and M. E. HAND: Adenine as a growth factor for etiolated peas and its relation to the thermal inactivation of growth. Arch. Biochem. **22**, 434—443 (1949). — LANG, A.: Induction of flower formation in biennal Hyoscyamus by treatment with gibberellin. Naturwissenschaften **43**, 284—285 (1956). — The effect of gibberellin upon flower formation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 709—717 (1957). — LEBEN, C., and L. V. BARTON: Effects of gibberellic acid on growth of Kentucky bluegrass. Science **125**, 494—495 (1957). — LOCKHART, J. A.: Reversal of the light inhibition of pea stem growth by the gibberellins. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **42**, 841—848 (1956). — Studies on the organ of production of the natural gibberellin factor in higher plants. Plant Physiol. **32**, 204—207 (1957). — The response of various species of higher plants to light and gibberellic acid. Physiol. Plantarum (Cph.) **1958** (in press). — LOCKHART, J. A., and J. BONNER: Effects of gibberellic acid on the photoperiod-controlled growth of woody plants. Plant Physiol. **32**, 492—494 (1957). — LONA, F.: Osservazioni orientative circa l'ettetto dell'acido Gibberellico sullo sviluppo riproduttivo di alcune longidiurne e brevidiurne. L'ateneo Parmense **27**, 867—875 (1956). — LONA, F., e A. BOCCHI: Luterferenza dell'acido gibberellico nell'effecto della luce rossa e rosso-estrema sull'allungamento dell fusto di *Perilla ocymoides* L. L'ateneo Parmense **27**, 645—649 (1956). — Germogliazione di gemme di *Fogus Sylvatica* L. in periodo di quiescenza invernale, a fotoperiodo breve, periazione dell'acido gibberellico. L'ateneo Parmense **28**, 116—118 (1957). — PHINNEY, B. O., C. A. WEST, M. RITZEL and P. M. NEELEY: Evidence for "gibberellin-like" substances from flowering plants. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 398—404 (1957). — RADLEY, M.: Occurrence of substances similar to gibberellic acid in higher plants. Nature (Lond.) **178**, 1070—1071 (1956). — VLITOS, A. J., and W. MEUDT: The effect of light and of the shoot apex on the action of gibberellic acid. Contr. Boyce Thompson Inst. **19**, 55—67 (1957). —WENT, F. W.: Effects of light on stem and leaf growth. Amer. J. Bot. **28**, 83—95 (1941). — The Earhart Plant Research Laboratory. Chron. bot. **12**, 89—108 (1950). — Experimental control of plant growth. Chron. bot. **1957**. — WITTWER, S. H., and M. J. BUKOVAC: Gibberellin effects on temperature and photoperiodic requirements for flowering of some plants. Science **126**, 30—31 (1957). — WITTWER, S. H., M. J. BUKOVAC and B. H. GRIGSBY: Gibberellin and higher plants: VI. Effects on the composition of Kentucky bluegrass (Poa pratensis) grown under field conditions in early spring. Mich. Agric. exp. St. Quart. Bull. **40**, 203—206 (1957).

Dr. J. A. LOCKHART,
Division of Biology, California Institute of Technology,
Pasadena, California, USA

Planta, Bd. 52, S. 259—275 (1958)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. HÄMMERLING, Wilhelmshaven

DAS VERHALTEN DER PLASTIDENPIGMENTE IN KERNLOSEN ZELLEN UND TEILSTÜCKEN VON ACETABULARIA MEDITERRANEA *

Von

GERHARD RICHTER

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. Juli 1958)

Einleitung

Die einkernige und einzellige Grünalge *Acetabularia* hat sich neben *Amoeba proteus* als besonders günstiges Objekt bei Untersuchungen erwiesen, die aufzeigen sollten, in welcher Weise verschiedene Prozesse in der Zelle nach Entfernung des Zellkerns betroffen werden. Dieser liegt bei *Acetabularia* im basalen Rhizoid und läßt sich daher leicht mit demselben entfernen. Die entstehende kernlose Zelle ist nicht nur in der Lage, mehrere Monate zu existieren, sondern sie zeigt darüber hinaus Formbildung, worunter ebenso wie bei kernhaltigen Zellen Stielverlängerung sowie Ausbildung von Wirteln und Hüten zu verstehen sind. Diese beachtlichen synthetischen Leistungen finden auch ihren Ausdruck im Stoffwechselgeschehen (vergl. dazu HÄMMERLING 1934a, 1953, 1957; HÄMMERLING u. Mitarb. 1958; BRACHET u. Mitarb. 1955, 1956). Daneben werden aber auch sofortige Ausfallerscheinungen deutlich. So wird die Nettosynthese der Ribonukleinsäure unmittelbar nach Entfernung des Kerns sistiert (RICHTER 1957, 1959)[1], ebenso die der „morphogenetischen Substanzen" (HÄMMERLING 1934a); auch die Aktivität der sauren Phosphatasen nimmt ab (Einzelheiten s. HÄMMERLING u. Mitarb. 1958).

Im Hinblick auf die Bedeutung der Chloroplasten als Träger der Photosynthesepigmente schien es wichtig, ihr Verhalten in kernlosen Zellen und Zellteilen anhand ihrer Pigmentgarnitur zu verfolgen, zumal entsprechende Angaben über ihre Proteine bereits vorliegen (VANDERHAEGHE 1954; CLAUSS 1958).

* Für persönliche und sachliche Unterstützung sei der Deutschen Forschungsgemeinschaft an dieser Stelle gedankt.

[1] Nach BRACHET u. Mitarb. (1955) soll in kernlosen Teilen eine Zunahme des RNS-Gehaltes erfolgen. In gemeinsamen Versuchen mit H. NAORA, die im Institut von Prof. BRACHET in Brüssel durchgeführt wurden, hat sich jedoch dieser Befund auch bei Anwendung der Isotopenverdünnungsmethode (BRACHET u. Mitarb. 1955) nicht bestätigen lassen (RICHTER (1957, 1959, RICHTER und NAORA 1959).

Dieses Programm setzte eine genaue Kenntnis der für *Acetabularia mediterranea* charakteristischen Pigmente voraus; sie wurden zunächst durch qualitative Analysen ermittelt.

Methodischer Teil

Das Versuchsmaterial — Acetabularia mediterranea — entstammte den Kulturen des hiesigen Instituts, die nach den Vorschriften von HÄMMERLING (1944) und BETH (1953) aufgezogen wurden (in „Erdschreiberlösung" bei 12 Stunden Tagesbeleuchtung von 2500 Lux und bei 22° C).

Die Anzucht einer Versuchsserie erfolgte nicht in „Erdschreiber", sondern in Seewasser, welches jeden 3. Tag erneuert wurde. Ziel dieser Maßnahme war, mögliche Unterschiede in der Pigmentgarnitur aufzufinden, die dann auf einer unterschiedlichen Zusammensetzung des Nährmediums beruhen würden. Außerdem sollte einer denkbaren Verarmung desselben und den dadurch bedingten Einflüssen auf die Pigment-Synthesen durch häufigeren Wechsel begegnet werden. Die Pflanzen zeigten — wie auch an natürlichen Standorten — eine zunehmende Verkalkung ihrer Membranen, mit der ein gleichförmiger Abfall in Wachstumsleistung und Pigmentgehalt einherging. Daher wurde für alle weiteren Versuchsanstellungen „Erdschreiber" als Kulturmedium bevorzugt. Bei Erneuerung im Abstand von 7—10 Tagen wuchsen die Pflanzen gut, eine Verarmung an essentiellen Substanzen trat nicht ein.

Kernlose Zellteile. Aus kurz vor der Hutbildung stehenden Pflanzen wurden durch Zerschneiden mit einer Weckerschere „kernlose ganze Zellen" von 25 bzw. 30 mm Länge (durch Abtrennung nur des Rhizoids), „Vorderstücke" und „Hinterstücke" (durch Amputation von Spitzenregion und Rhizoid) hergestellt. Bis zu ihrer Verarbeitung gemäß Versuchsanstellung wurden diese kernlosen Zellteile normal — wie oben beschrieben — kultiviert. Ihre Leistungen hinsichtlich Formbildung sind bei den Versuchsbeschreibungen aufgeführt.

Für jede Versuchsreihe kam nur Material gleicher Herkunft und Anzucht zur Verarbeitung.

Als *Bezugsgröße* wurde die Anzahl verarbeiteter Zellen bzw. Zellteile gewählt.

Jede Versuchsreihe wurde mindestens dreimal mit Zellen verschiedener Kulturen wiederholt; die Abbildungen geben repräsentativ das typische Ergebnis einer solchen Versuchsserie wieder.

Trennung und quantitative Bestimmung der Carotinoide. Die Extraktion dieser Pigmente wurde in Anlehnung an die Methode von GOODWIN u. JAMIKORN (1954) unter gleichzeitiger Verseifung durchgeführt (Zerreiben des Versuchsmaterials in einem Gemisch von Kalilauge [60%] und Äthylalkohol im Verhältnis 1:10; Extraktion für 15 min bei 42—45° C durch Einstellen des Homogenisators in ein entsprechendes Wasserbad; nach Zentrifugation gleiche Behandlung des Rückstandes für weitere 5 min; erneute Zentrifugation, Verwerfen des Rückstandes). Allerdings kommt es hierbei zur Zerstörung des alkalilabilen Astaxanthins (vergl. dazu GOODWIN 1955), welches mit anderen Methoden als charakteristisches Pigment in Acetabularia nachgewiesen werden konnte; es wurde in die quantitativen Bestimmungen nicht einbezogen.

Die vereinigten partikelfreien Zentrifugier-Überstände wurden mit Äther überschichtet, und die Carotinoide nach Zugabe von NaCl-Lösung (10%) und dest. Wasser in dieses Lösungsmittel überführt; eine zweite, gleichartige Extraktion der zurückbleibenden wäßrigen Phase schloß sich an. Diese war danach frei von Carotinoiden. Eine Auftrennung in epi- und hypophasische Carotinoide erübrigte sich, da für die anschließende säulenchromatographische Trennung nur ein Gesamt-

extrakt erforderlich war. Die Ätherlösung wurde alkalifrei gewaschen und zum Entzug ihres Wassergehaltes 5—7 Stunden im Eisschrank bei —15° C belassen; das gewöhnlich hierfür verwendete wasserfreie Na_2SO_4 war wegen seiner starken Adsorptionseigenschaften gegenüber diesen Pigmenten unbrauchbar. Das nach der Kältebehandlung am Boden des Scheidetrichters abgesonderte Wasser konnte leicht abgetrennt werden. Die ätherische Lösung der Carotinoide wurde anschließend im CO_2-Strom auf einem Wasserbad (30° C) bis auf etwa 2 ml eingeengt, mit wenig Petroläther (p. a.; Kp. 30—50° C) versetzt und der restliche Äther vertrieben. Der intensiv gefärbte Petrolätherextrakt diente als Ausgangsprodukt für die säulenchromatographische Trennung.

Die beste Auftrennung wurde mit Stärkemehl („Maizena") erzielt (vgl. dazu Bukatsch 1951); nach Einfüllen desselben in die Adsorptionsröhre bei laufender Wasserstrahlpumpe und unter vorsichtigem Zusammendrücken mit einem Stopfer wurde zunächst mit Petroläther durchgewaschen, darauf die Pigmentlösung auf die Säule gebracht. Nach Eindringen der Farbstoffe begann die Entwicklung mit Petroläther +0,1% Isopropylalkohol; das durchlaufende β-Carotin wurde aufgefangen, danach so lange weiterentwickelt, bis jedes Pigment als deutlich getrennte Farbzone auf der Säule vorlag. Nach Trockensaugen derselben wurden die gefärbten Zonen getrennt herausgestochen und auf einer Glasfilternutsche — nach Absaugen der letzten Petrolätherreste — mit Äthylalkohol extrahiert. Alle Proben wurden einheitlich auf 5 ml Endvolum aufgefüllt.

Die Aufnahme der Absorptionskurven sowie die Messung der Absorption in den charakteristischen Maxima der einzelnen Pigmente erfolgten im Beckman-Spektralphotometer (Modell DU).

Da die Erfassung relativer Unterschiede im Vordergrund der Untersuchungen stand, wurde von einer Berechnung der Absolutwerte abgesehen; es wurden vielmehr die im Hauptabsorptionsmaximum der Pigmente gemessenen Extinktionswerte miteinander verglichen.

Chlorophyllbestimmung. Das Versuchsmaterial wurde nach Zugabe einer Spatelspitze $CaCO_3$ mit Methylalkohol p. a. im Homogenisator zerrieben und einige Minuten extrahiert. Der nach Zentrifugation anfallende Rückstand erwies sich nach Waschen mit Methylalkohol als chlorophyllfrei. Die vereinigten Extrakte wurden mit peroxydfreiem Äther überschichtet, und die Chlorophylle nach Zugabe von NaCl-Lösung (10%ig) und dest. Wasser in diesen überführt; die zurückbleibende methanolische Phase war farblos. Nach mehrmaligem Waschen mit dest. Wasser und Trocknen über wasserfreiem Na_2SO_4 wurde der Ätherextrakt auf 5 ml aufgefüllt. Die Bestimmung des Gesamtchlorophylls (a+b) erfolgte nach der Vorschrift von Comar u. Zscheile (1942); von einer gesonderten Berechnung der Mengen an Chlorophyll a und Chlorophyll b wurde abgesehen, da nach Befunden von Clauss (1958) das normale Verteilungsverhältnis a:b in kernlosen Zellen und Zellteilen über einen Zeitraum von 30 Tagen unverändert bleibt. Das Verhalten der Gesamt-Chlorophyllfraktion in diesen entspricht somit dem ihrer Komponenten a und b.

Ergebnisse

Das fertig entwickelte Säulenchromatogramm zeigte vier deutlich getrennte Farbzonen von Pigmenten, die nach Überführung in Äthylalkohol oder Chloroform auf Grund ihrer Absorptionskurven als Neoxanthin, Violaxanthin, Xanthophyllepoxyd und Lutein identifiziert werden konnten. Ihre genaue Lage auf der Säule ist der beigefügten

Skizze zu entnehmen (Abb. 1). Ein fünftes Pigment — es handelte sich um β-Carotin — wurde nicht adsorbiert und konnte quantitativ in der Saugflasche aufgefangen werden. Bei einigen Trennungen erschien zwischen den Zonen des Neoxanthin und des Violaxanthin die Bande eines weiteren Carotinoids, das in Äthylalkohol ein Maximum bei 430 mμ hatte. Ähnliche Farbstoffe hat HAGER (1957) bei der papierchromatographischen Auftrennung der Blattpigmente nachweisen können. Ob es sich dabei um vorübergehend auftretende Farbstoffe oder um Abbauprodukte handelt, bleibe dahingestellt. Reste des Astaxanthins (vergl. S. 260) erschienen bisweilen als rötlicher Ring vor dem Lutein wandernd. Mit Ausnahme des Xanthophyllepoxyds, das bisher nur in Blüten und grünen Blättern gefunden wurde (HAGER 1957), sind die übrigen nachgewiesenen Carotinoide bereits als charakteristisch für einige Chlorophyceen beschrieben worden (Zusammenfassung bei GOODWIN 1955). Bei der Bestimmung der quantitativen Verteilung der nachgewiesenen Carotinoide zeigte sich, daß in *Acetabularia* mengenmäßig das Lutein überwiegt; es folgen entsprechend ihrer Menge β-Carotin, Neoxanthin, Violaxanthin und Xanthophyllepoxyd.

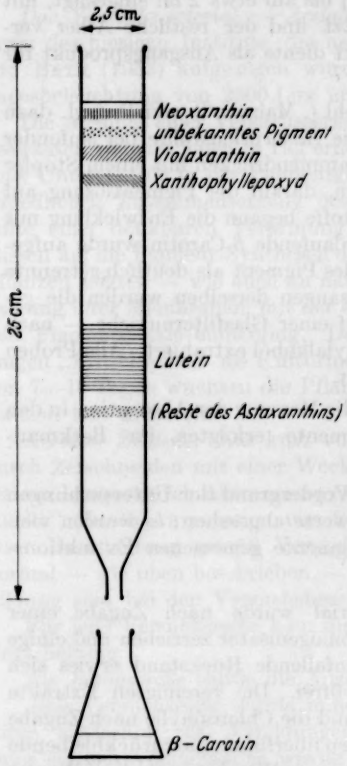


Abb. 1. Chromatogramm der Carotinoide an der Stärkesäule

Im ersten Versuch wurde das Verhalten dieser fünf Carotinoide in normal wachsenden kernhaltigen Pflanzen über einen Zeitraum von 30 Tagen messend verfolgt, um für die Untersuchungen an kernlosen Zellen oder Zellteilen eine Vergleichsmöglichkeit zu haben. Die Mengen-Bestimmungen erfolgten alle 10 Tage, wobei die Pflanzen stets zum gleichen Zeitpunkt der Belichtungsperiode entnommen wurden. Als Richtgröße dienten Länge bzw. Entwicklungszustand der Pflanzen. Abb. 2 zeigt, daß zwischen Wachstum und Carotinoidgehalt eine deutliche Korrelation besteht; gleichzeitig bleibt die quantitative Verteilung der Pigmente weitgehend konstant.

In den nächsten Versuchen wurden Vorkommen und Menge der Carotinoide in kernlosen ganzen Pflanzen (30 mm Ausgangslänge, kurz vor der Hutbildung stehend) bestimmt. Nach Amputation der Rhizoide wurde zunächst eine 12stündige Dunkelruhe eingeschaltet.

Darauf erfolgte in sofort entnommenen Proben die Bestimmung des Pigmentgehaltes. Die erhaltenen Mengen dienten als Ausgangswerte („Tag 0“) für alle weiteren Bestimmungen des laufenden Versuchs, die in Abständen von 10 Tagen erfolgten. Hierbei wurde so verfahren, daß jeweils das gesamte Versuchsmaterial aus 5 Kulturschalen verwendet wurde, nachdem die unterschiedlichen Regenerationsleistungen der Zellen registriert worden waren; sie sind in Abb. 3 aufgeführt.

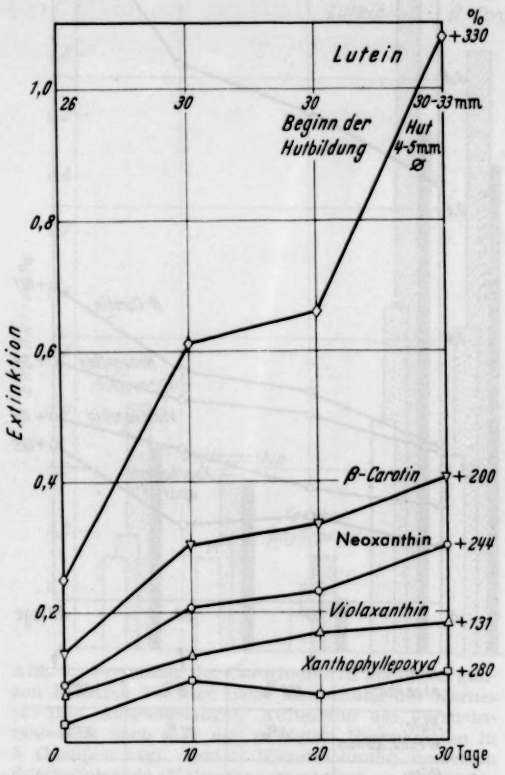


Abb. 2. Zunahme der Carotinoide in wachsenden kernhaltigen Pflanzen über 30 Tage. Probeentnahme (Pflanzen der gewünschten Länge wurden ausgesucht) und Bestimmung alle 10 Tage. Die Werte beziehen sich auf 150 Pflanzen; die Zunahme (in %) der einzelnen Pigmente im Versuchszeitraum ist in der Abb. angegeben. — Ordinate: Extinktion der Farbstoffe in Äthylalkohol (5 ml Endvolumen) bei 10 mm Schichtdicke

Es zeigte sich (Abb. 3), daß trotz Fehlens des Kerns die Vermehrung der Carotinoide weitergeht. Auch die für normale Pflanzen ermittelte quantitative Verteilung bleibt bestehen; neue Pigmente treten nicht auf. Da sich die untersuchten kernlosen Pflanzen hinsichtlich ihres Wachstums und ihrer Regenerationsfähigkeit unterschiedlich verhielten, war die Zusammensetzung der untersuchten Proben entsprechend heterogen (vergl. diesbezügliche Angaben in Abb. 3). Die Meßwerte geben daher nur die durchschnittliche Leistung wieder, aus denen die wahre Vermehrung in den Teilen mit unterschiedlicher Regeneration nicht hervorgeht. Mit einer abgeänderten Versuchsanstellung wurde auch diese erfaßt: Von einer ausreichenden Menge kernloser Pflanzen wurde in einer Probe die Verteilung der Carotinoide am „Tage 0“ bestimmt. Nach 30 Tagen normaler Kultur wurden die übrigen Versuchspflanzen nach dem Grad ihrer Regeneration in drei Gruppen aufgeteilt:

1. ohne Hut (reines Stielwachstum und Wirtelbildung, Zuwachs 2—4 mm),

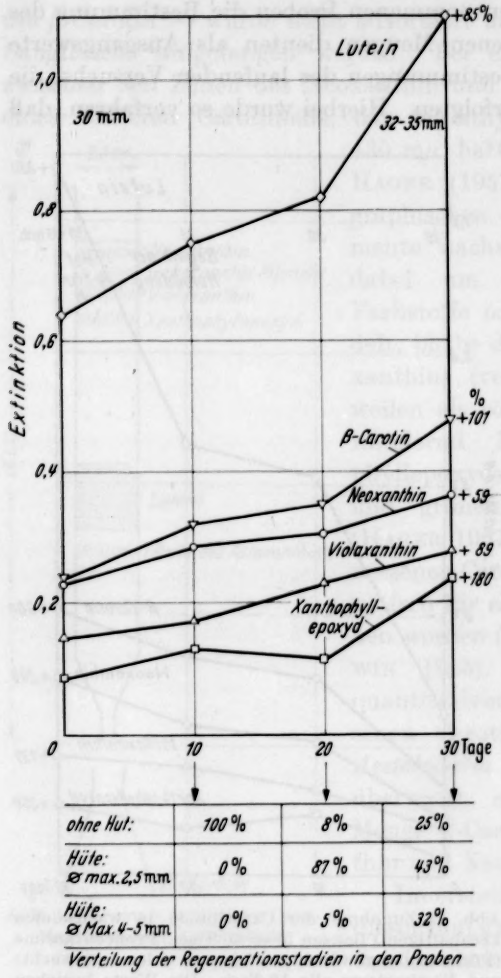


Abb. 3. Verhalten der Carotinoide in kernlosen ganzen Pflanzen (30 mm Ausgangslänge) bis zum 30. Tag nach Kernentfernung. Probeentnahme (vgl. Text) und Bestimmung alle 10 Tage. Bezugnahme auf 150 Pflanzen

2. mit kleinen Hüten (Durchmesser maximal 2,5 mm) und

3. mit großen Hüten (Durchmesser 4 bis 6 mm; Stiele meist schon infolge Einwanderns ihres plasmatischen Inhalts in den Hut hellgrün geworden).

Es sei noch vermerkt, daß auch in den beiden letzten Gruppen zunächst ein etwa gleichstarkes Stielwachstum erfolgte. In jeder Gruppe wurden die Carotinoide getrennt bestimmt und die Resultate miteinander verglichen.

Auch hier fällt die bemerkenswerte Konstanz in der quantitativen Verteilung der Pigmente sofort ins Auge (Abb. 4). Die unterschiedliche Leistung der kernlosen Zellen hinsichtlich Formbildung findet ihren Ausdruck auch im Spiegel der Carotinoide. Er war am höchsten, wenn die Pflanzen kleine Hüte hatten, am geringsten, wenn nur Stiel gebildet worden war. Regenerate mit großen Hüten waren hinsichtlich ihres Carotinoidgehaltes stets zwischen beiden Gruppen einzuordnen. Hierin unterscheidet sich die Ausbildung des Hutes deutlich vom gleichen Vorgang in kernhaltigen Pflanzen, wo die Vermehrung der Carotinoide weitergeht (Abb. 2); bei kernlosen Regeneraten dagegen scheinen Abbauvorgänge die Synthese der Carotinoide abzulösen, sobald die Hutbildung ein kritisches Stadium überschritten hat. Der Mechanismus der Carotinoid-Synthese bleibt also in kernlosen Pflanzen bis über den Zeitpunkt der Ausdiffe-

renzierung des Hutes funktionstüchtig, was in der gleichförmigen Zunahme aller dieser Pigmente unter Beibehaltung der ursprünglichen quantitativen Verteilung zum Ausdruck kommt: Lutein mit dem größten absoluten Anteil, dann β-Carotin, Neoxanthin, Violaxanthin und Xanthophyllepoxyd.

Zerlegt man ganze kernhaltige Pflanzen, die kurz vor der Hutbildung stehen, in „Vorder-" und „Hinterstücke" (vergl. „Methodischer Teil") von 12 mm Länge, so zeigen diese beiden Typen von kernlosen Teilen ein unterschiedliches Regenerationsverhalten: die Vorderstücke sind meist zu Stielwachstum und Hutbildung befähigt; die Hinterstücke dagegen bilden kaum neuen Stiel und niemals Hüte (HÄMMERLING 1934a, 1953, 1957). Es schien daher wichtig, festzustellen, ob diese unterschiedliche Fähigkeit zur Formbildung auch ihren Ausdruck im Verhalten der Carotinoide findet und inwieweit die bei kernlosen ganzen Zellen erhobenen Befunde auch für kernlose Zellteile Gültigkeit besitzen.

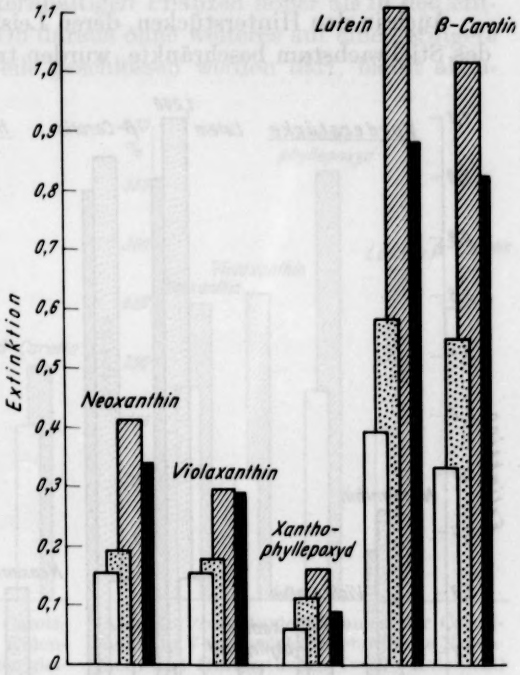


Abb. 4. Verteilung der Carotinoide in kernlosen ganzen Pflanzen 30 Tage nach Entfernung des Kernes (25 mm Ausgangslänge). Aufteilung des Versuchsmaterials nach Art der erfolgten Regeneration in 3 Gruppen (vgl. Text); Kennzeichnung derselben durch folgende Kolonnen: punktiert = Versuchspflanzen mit reinem Stielwachstum; schraffiert = solche mit kleinen Hüten; schwarz = mit großen Hüten. Weiße Kolonnen: vorhandene Pigmentmenge bei Herstellung der kernlosen Pflanzen („Tag 0"); Werte bezogen auf 150 Teile

Nach Abb. 5 zeigen sowohl Vorder- wie Hinterstücke (bei 12 mm Ausgangslänge von 28—32 mm langen Pflanzen) über einen Zeitraum von 25 Tagen eine deutliche Vermehrung ihrer Carotinoide. Da die Vorderstücke wie üblich unterschiedlich regenerierten, wurden sie entsprechend in zwei Gruppen getrennt analysiert: 1. Teile mit großen (73%) und kleinen Hüten (max. Durchmesser 1,5 mm) und 2. Teile nur mit Stielwachstum. (Eine weitere Aufteilung war aus technischen Gründen nicht möglich.) Im Gegensatz zu den kernlosen ganzen Zellen (Abb. 4) zeigte die zweite Gruppe — Teile mit Stielwachstum — eine stärkere Zunahme der Carotinoide als die

erste, obwohl diese sich durch ein hohes Maß an Regenerationsfähigkeit auszeichnete. Abbauvorgänge in den Teilen mit großen Hüten (73%) könnten auch hier für die niedrigere Gesamtleistung der ersten Gruppe verantwortlich sein.

Auch in den Hinterstücken, deren Leistung sich nur auf unbedeutendes Stielwachstum beschränkte, wurden trotzdem alle Carotinoide unter

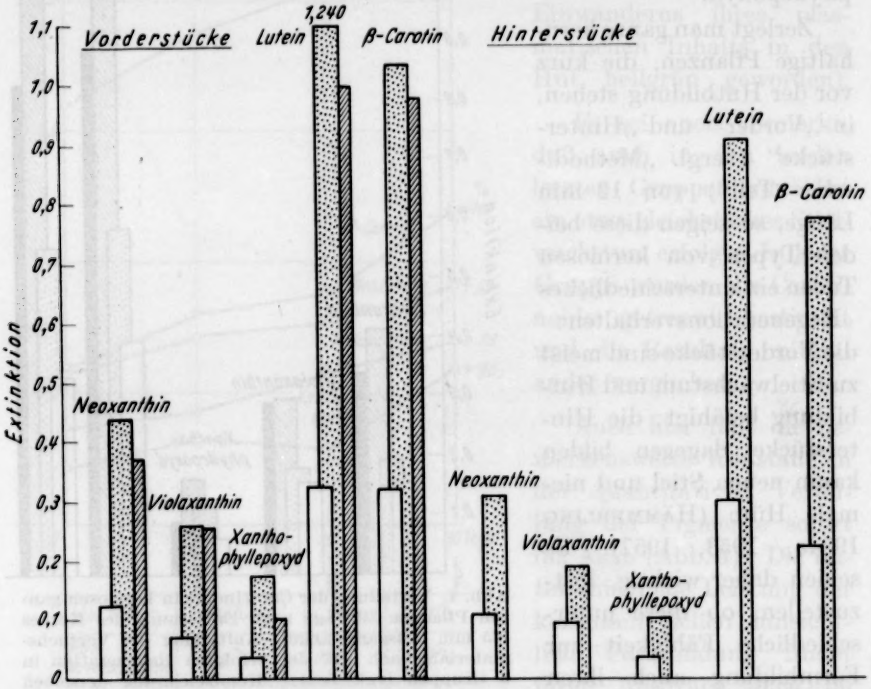


Abb. 5. Verteilung der Carotinoide in 12 mm langen kernlosen Vorder- und Hinterstücken (vergl. Text) 25 Tage nach ihrer Herstellung (aus den gleichen Pflanzen: 28—32 mm Länge, ohne Hut). Kennzeichnung der Kolonnen: punktiert = Teilstücke mit reinem Stielwachstum; schraffiert = Teilstücke, die neben Stiel auch kleine (Durchm. max. 1,5 mm) und große Hüte (Durchm. max. 5 mm) bildeten; weiß = Ausgangsmenge bei Herstellung der Teilstücke. Die angegebenen Werte beziehen sich auf 300 Teilstücke

Beibehaltung der für Normalpflanzen typischen quantitativen Verteilung vermehrt (Abb. 5).

Vergleicht man die prozentuale Zunahme der einzelnen Carotinoide in kernhaltigen und kernlosen Zellen einerseits, in Vorder- und Hinterstücken andererseits, so ergeben sich einige bemerkenswerte Tatsachen. Im ersten Falle (Abb. 6) wurden kernhaltige ganze Pflanzen von 26 mm Ausgangslänge nach 30 Tagen Kultur analysiert; sie waren auf 30—32 mm Länge herangewachsen und hatten Hüte von 4—5 mm Durchmesser gebildet. Der gleichen Kultur entstammten auch die kernlosen ganzen Pflanzen (Ausgangslänge 26 mm), von denen die zur Untersuchung aus-

gewählt wurden, welche nach 30 Tagen normaler Kultur gleiche Länge und gleiches Hutstadium wie die kernhaltigen Pflanzen erreicht hatten.

Es zeigte sich, daß trotz gleicher Wuchsleistung die Zunahme jedes untersuchten Carotinoids in kernhaltigen Pflanzen höher als in den entsprechenden kernlosen war. Ob daraus ohne weiteres auf eine geringere Syntheseleistung kernloser Teile geschlossen werden darf, bleibt abzu-

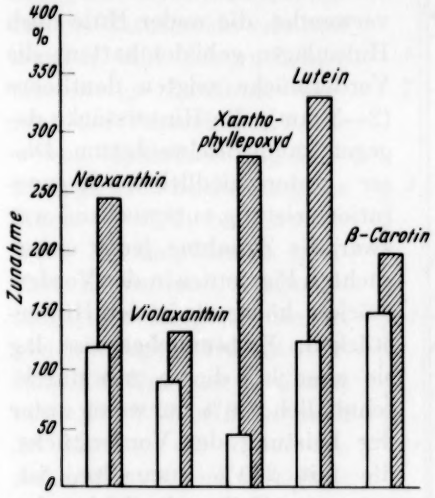


Abb. 6. Prozentuale Zunahme der Carotinoide in kernhaltigen (schraffierte Kolonnen) und in kernlosen ganzen Pflanzen gleicher Ausgangslänge (26 mm) nach 30 Tagen Kultur. Alle Pflanzen entstammten der gleichen Anzuchtserie; untersucht wurden nur solche, die im Versuchszeitraum um 5—7 mm auf 30—32 mm herangewachsen waren und einen Hut (4—5 mm Durchm.) gebildet hatten

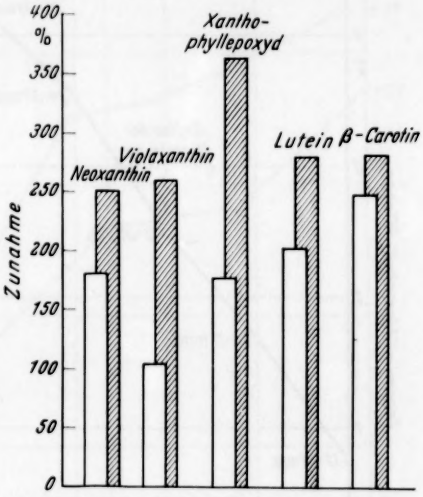


Abb. 7. Prozentuale Zunahme der Carotinoide in Vorderstücken (schraffierte Kolonnen) und Hinterstücken (weiße Kolonnen) von 12 mm Ausgangslänge 25 Tage nach ihrer Herstellung (aus den gleichen hutlosen Ausgangspflanzen von 28—32 mm Länge). Untersucht wurden nur Teile mit Stielwachstum (vgl. Text)

warten; es muß nämlich die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß vielleicht relativ frühzeitig einsetzende Abbauvorgänge den Carotinoidgehalt regenerationsuntüchtig werdender kernloser Zellen erniedrigen. Untersuchungen an solchem Material, das bis zum 40. Tage nach Entfernung des Kernes weiterkultiviert worden war, ergaben, daß mit Erlöschen der Regeneration, jedoch bei voller Lebensfähigkeit, ein deutliches Absinken des Pigmentgehaltes einsetzt.

Trotz Beibehaltung der ursprünglichen quantitativen Verteilung (vgl. Abb. 4) scheint die prozentuale Zunahme der einzelnen Pigmente nicht ganz einheitlich zu verlaufen. Bei Annahme eines maximalen methodischen Fehlers von $\pm 20\%$ ergeben sich bei den kernhaltigen Pflanzen Abweichungen für Violaxanthin und β-Carotin, bei den kernlosen für Xanthophyllepoxyd. Ob allerdings dieses Verhalten die Regel darstellt,

kann nach den bisher vorliegenden Versuchsergebnissen noch nicht entschieden werden.

Im zweiten Falle wurden die Carotinoide in 25 Tage alten Vorder- und Hinterstücken bestimmt; die Teilstücke entstammten 28—32 mm großen, hutlosen Pflanzen gleicher Kultur und hatten 12 mm Ausgangslänge. Für den dargestellten Versuch (Abb. 7) wurden nur Teile verwendet, die weder Hüte noch Hutanlagen gebildet hatten; die Vorderstücke zeigten deutliches (2—3 mm), die Hinterstücke dagegen kaum Stielwachstum. Dieser unterschiedlichen Regenerationsleistung entsprechend war zwar die Zunahme jedes untersuchten Pigmentes in den Vorderstücken höher als in den Hinterstücken. Erstaunlicherweise lag sie aber bei diesen mit durchschnittlich 200% nur wenig unter der Leistung der Vorderstücke, die mit 270% anzusetzen ist, wenn nur Teile mit Stielwachstum ohne Hutbildung analysiert wurden. Verfolgt man das Verhalten der einzelnen Pigmente in Vorder- und Hinterstücken genauer (Abb. 7), so bietet sich hinsichtlich der prozentualen Zunahme ein einheitlicheres Bild als bei den kernhaltigen und kernlosen ganzen Pflanzen; hier fallen nur Violaxanthin bei den Hinterstücken durch geringere, Xanthophyllepoxyd bei den Vorderstücken durch überdurchschnittliche Zunahme aus der Reihe. Auch hier gilt der bei ganzen Pflanzen im gleichen Zusammenhang geäußerte Vorbehalt, wonach zur endgültigen Sicherstellung dieser Befunde umfangreichere Untersuchungen erforderlich sind.

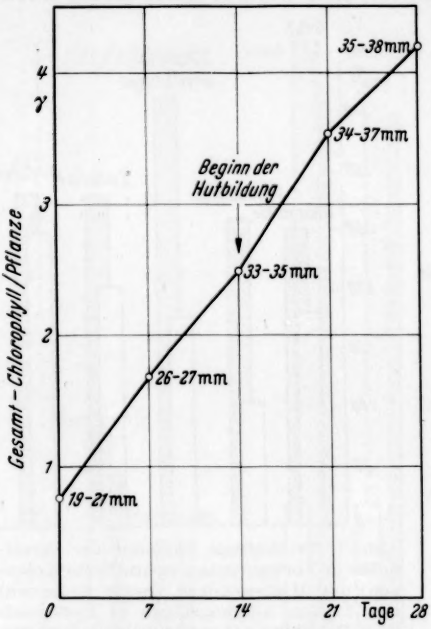


Abb. 8. Verhalten des Gesamt-Chlorophylls (a + b) in wachsenden kernhaltigen Pflanzen. Ausgangslänge der Versuchspflanzen 19 bis 21 mm. Probeentnahme und Bestimmung alle 7 Tage. Am Versuchsende (28. Tag) hatten alle untersuchten Pflanzen Hüte von 4—5 mm Durchmesser gebildet und waren auf 35—38 mm herangewachsen. — Ordinate: γ-Gesamt-Chlorophyll je Pflanze

Chlorophyll. Verfolgt man das Verhalten der Chlorophyllfraktion in wachsenden kernhaltigen Pflanzen (Abb. 8) unter Bezugnahme auf das Längenwachstum bzw. den Entwicklungszustand, so läßt sich eine gleichförmige Zunahme während des Stiel-Wachstums und der nachfolgenden Hutbildung feststellen, wie sie auch für die Carotinoide

charakteristisch war. Dieses Verhalten ist gleichzeitig als Ausdruck einer konstanten Plastidenvermehrung aufzufassen.

In den nächsten Versuchen wurde zum Vergleich der Chlorophyllgehalt kernloser ganzer Pflanzen (27 bzw. 30 mm Ausgangslänge) bis 30 bzw. 28 Tage nach Kernentfernung verfolgt, wobei die Proben in Abständen von 10 bzw. 7 Tagen entnommen und analysiert wurden (Abb. 9). In Übereinstimmung mit den Befunden, die für die Carotinoide erhalten wurden, läßt sich auch hier eine stetige Zunahme während der Versuchszeit nachweisen. Maximal betrug sie — 28 Tage nach Entfernung des Kerns — 87%, bei kernhaltigen Normalpflanzen (gleicher Kultur und Ausgangslänge) nach fortgeschrittener, gleichwertiger Hutentwicklung (Durchmesser 4—5 mm) etwa 100% (ebenfalls nach 28 Tagen). Ob diese annähernde Gleichwertigkeit in der Leistung allerdings bei kernlosen ganzen Pflanzen in der Regel anzutreffen ist, kann auf Grund der relativ wenigen Versuchsdaten nicht sicher entschieden werden.

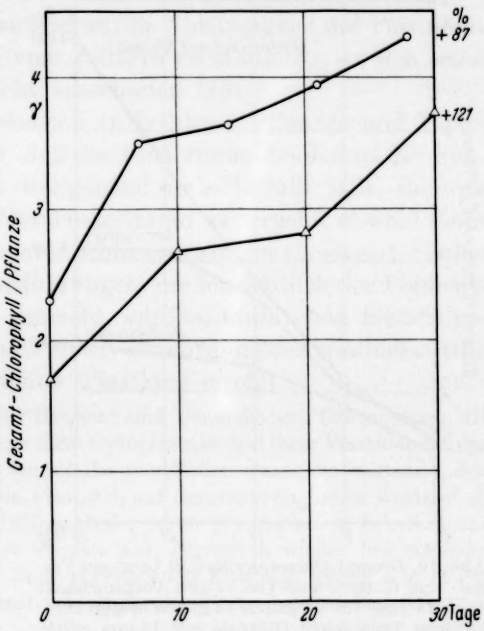


Abb. 9. Verhalten des Gesamt-Chlorophylls in kernlosen ganzen Pflanzen von 27 und 30 mm Ausgangslänge über 30 bzw. 28 Tage; sie hatten in dieser Zeit alle Hüte (4—5 mm Durchm.) gebildet und waren auf durchschnittlich 31 bzw. 36 mm herangewachsen. — Die Ausgangspflanzen beider Versuchsreihen entstammten verschiedenen Anzuchtserien

In kernlosen Vorder- und Hinterstücken kommt es gleichfalls zu einer deutlichen Chlorophyllvermehrung, die bei Vorderstücken bis zum 21., bei Hinterstücken bis zum 14. Tag andauerte. Bemerkenswert ist auch hier die Tatsache, daß zwar die Vorderstücke wie im Falle der Carotinoid-Synthese die größere Leistung zeigten, die Hinterstücke jedoch mit ihrer Chlorophyll-Synthese nur unwesentlich unter dieser blieben (Abb. 10), obwohl ihre Formbildung minimal war und sich nur auf geringfügiges Stielwachstum beschränkte. Für die kernhaltigen Teilstücke (Rhizoid mit 12 mm Stiel, aus den Pflanzen gleicher Kultur wie die Vorder- und Hinterstücke hergestellt) war in der gleichen Zeit eine gleichmäßige, linear ansteigende Zunahme ihres Chlorophyllgehaltes

charakteristisch; am Ende der Versuchszeit hatten sie viel Stiel und durchweg Hüte gebildet.

Vergleicht man zusammenfassend die Befunde, so ist eine Einheitlichkeit im Verhalten der Carotinoide und Chlorophylle bei kernlosen Zellen und deren Teilstücken unverkennbar; die Vermehrung beider Pigmentfraktionen wird bei ihnen bis zum Abklingen der Regeneration fortgesetzt. Die Vorderstücke sind, wie das auf Grund ihrer guten Regenerationsfähigkeit zu erwarten war, den Hinterstücken überlegen; diese zeigen jedoch — gemessen an ihrer geringen Formbildung — eine erstaunlich hohe Leistung.

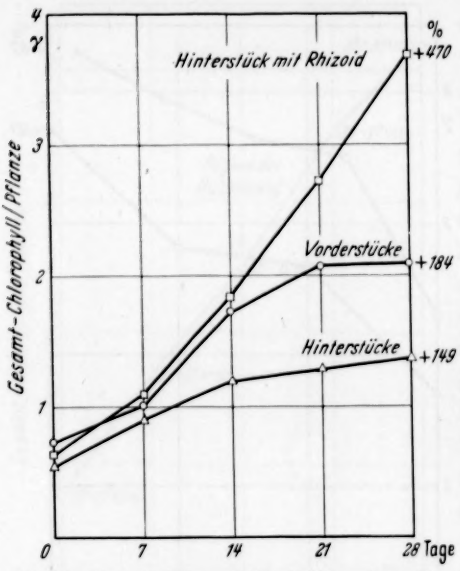


Abb. 10. Gesamt-Chlorophyllgehalt kernloser Vorder- und Hinterstücke von 12 mm Ausgangslänge über 28 Tage im Vergleich zu gleich langen kernhaltigen Teilstücken (Rhizoid mit 12 mm Stiel). Diese hatten am 28. Tage alle Hüte, die Vorderstücke außer Stiel zu 70 %, die Hinterstücke wenig Stiel und keine Hüte gebildet. — Alle Teile wurden aus den gleichen Pflanzen (28—32 mm Länge, ohne Hut) hergestellt

Diskussion

Die Entwicklung kernhaltiger Normalpflanzen von *Acetabularia* ähnelt der grüner Pflanzengewebe insofern, als mit der Synthese der Chlorophylle eine gleichsinnige Zunahme der Carotinoide einhergeht (Lit. bei GOODWIN 1952); sie entspricht — nach der Definition von CHODAT u. HAAG (1940) — dem Typ, der auf der genetischen Disposition der Alge beruht und in einem normalen Nährmedium abläuft. Diese stetige Zunahme beider Pigmentfraktionen in der wachsenden Zelle ist gleichzeitig als ein Ausdruck für die laufende Vermehrung ihrer Organelle, der Plastiden, zu werten, welche sich — wie alle autonomen plasmatischen Zellbestandteile — durch Teilung vermehren.

Nach den vorliegenden cytologischen Befunden (HÄMMERLING 1934b) dürfte die Spitzenregion des Stieles ein Ort intensiver Plastidenvermehrung sein; infolge ihrer hohen Teilungsrate bleiben sie relativ klein und erreichen erst in weiter hinten gelegenen Bezirken der Stielregion ihre endgültige, charakteristische Größe. Da Zell- und Kernteilung zunächst fehlen, sich aber gleichzeitig die Zelle durch enormes Wachstum des Stieles und anschließende Hutbildung sehr stark vergrößert, muß eine entsprechende Zunahme der Plastidenzahl vorausgesetzt werden. In welchem Maße allerdings eine Korrelation von Zellvolumen, Plasmamenge und Partikelzahl verwirklicht ist, läßt sich bei *Acetabularia* wegen der zahlreichen Plastiden methodisch schwer nachweisen.

Über ein Beispiel weitgehender Unabhängigkeit des Algenplastiden von Kern- und Cytoplasmaeinflüssen hat VAN WISSELINGH (1920) bei *Spirogyra triformis* berichtet, wo ein abnormer Chloroplast neben einem normalen vegetativ geteilt und bei der folgenden Zellteilung in die Tochterzellen gelangte, wo er unverändert erhalten blieb. Dieser Befund stützt die Ansicht, wonach die Plastiden zur Wahrung ihrer phänotypischen Eigenschaften befähigt sind.

Bei *Acetabularia* gelingt es außerdem, die Abhängigkeit der Plastidenentwicklung und -vermehrung vom Zellkern zu studieren, da sich seine Wirkung durch Entfernen leicht ausschalten läßt.

Aus den beschriebenen Versuchen an kernlosen Pflanzen und Teilen derselben geht deutlich hervor, daß die Entfernung des Kerns die Synthese der Plastiden-Pigmente weitgehend unbeeinflußt läßt, da ihre Synthese über den gesamten Versuchszeitraum weitergeht, obwohl sie in Pflanzen mit großen Hüten von evtl. Abbauvorgängen überlagert werden kann. In Anlehnung an die Ausführungen, die hinsichtlich der Pigment-Synthese bei Normalpflanzen gemacht wurden, muß schon hieraus geschlossen werden, daß dabei auch eine Vermehrung oder zumindest eine Ausdifferenzierung bereits geteilter Plastiden erfolgt.

Besonders eindrucksvoll in dieser Hinsicht sind Versuche an Pflanzenteilen, die bei der Amputation eine große Menge ihres Cytoplasmas und ihrer Plastiden infolge Ausfließens eingebüßt hatten; in einer Reihe von Fällen waren sie imstande, den Verlust auszugleichen und dabei die Plastiden auf den ursprünglichen Zustand zu ergänzen ((HÄMMERLING 1934c). Pflanzenteile, deren plasmatischer Inhalt durch Zentrifugation weitgehend entfernt worden war, ergrünten wieder bei normaler Kultur. Die wenigen noch in der Zelle verbliebenen Plastiden waren also in der Lage, den alten Spiegel durch intensive Vermehrung wieder herzustellen (WERZ u. CLAUSS unveröffentl.).

Die relativ starke Zunahme an Chlorophyll und Carotinoiden in kernlosen Vorderstücken im Vergleich zu gleichlangen Hinterstücken steht im Einklang mit ihren guten Regenerationsleistungen. Vielleicht mag dabei der Umstand mitspielen, daß die Vorderstücke auch im System der Gesamtzelle der bevorzugte Ort der Plastidenvermehrung waren; herausgenommen aus diesem vermögen sie nun — ohne Einfluß des Zellkerns — diese Fähigkeit weitgehend weiter zu entfalten.

Nimmt man an, daß es in den kernlosen Hinterstücken, die nur geringes Stielwachstum zeigen, hauptsächlich zu einer Ausdifferenzierung von Jungplastiden kommt, welche in der Spitze durch Teilung entstanden und vor deren Abtrennung in die hintere Stielregion gelangten, so ergibt sich eine Erklärungsmöglichkeit für den zunächst unerwarteten Befund, wonach auch nichtwachsende kernlose Teile eine auffallend hohe Pigmentsynthese zeigen.

Ein weiterer Beweis für die weitgehende Kernunabhängigkeit von Pigmentsynthese und Plastidenvermehrung ist in der Beibehaltung der

qualitativen Zusammensetzung der Farbstoffgarnitur und der für Normalpflanzen typischen quantitativen Verteilung zu sehen. Dieser Fall zeigt, daß Prozesse, welche nach Entfernung des Kerns noch ablaufen können, sich qualitativ nicht von denen in kernhaltigen Zellen zu unterscheiden brauchen. Hierin liegt auch ein grundsätzlicher Unterschied zu den Erscheinungen, die allgemein infolge Mangelzuständen aufzutreten pflegen.

Setzt man andere Leistungen kernloser Zellen in Beziehung zur Pigment-Synthese, so wird ihr teilweise abweichendes Verhalten von diesen deutlich. Die RNS-Vermehrung wird mit der Abtrennung des Kernes sistiert (RICHTER 1957, 1959, RICHTER u. NAORA 1959). Die Vermehrung des löslichen Proteins erlosch nach etwa 22 Tagen, wie Messungen am gleichen Versuchsmaterial ergaben. Hingegen war die Zunahme der Chlorophylle und Carotinoide noch wenigstens am 30. Tag nach der Kernentfernung deutlich meßbar, wenn die Regenerate Stielwachstum und Hutbildung (Durchmesser um 2,5 mm) zeigten.

Daß die daraus abzuleitende Kernunabhängigkeit aber nur bis zu einem gewissen Grade besteht, geht aus dem Vergleich mit den Leistungen kernhaltiger Normalpflanzen hervor. Gegenüber diesen ist bei den kernlosen Pflanzen trotz funktionstüchtiger Synthese eine nachlassende Leistung unverkennbar. Ihre Ursachen können verschiedener Natur sein.

Da ein sofortiger Effekt auf die Pigmentsynthese nach Abtrennung des Kerns ausbleibt, ist sein Einfluß nur indirekter Natur. Für die Vermehrung der Plastiden und ihrer Farbstoffe müssen — im Hinblick auf die Verhältnisse bei höheren Pflanzen — ebenfalls Faktoren in Betracht gezogen werden, die einmal im umgebenden Plasma, zum anderen in den Plastiden selbst lokalisiert sein können. Daß diese — wenn auch in indirekter Weise — vom Kern gesteuert werden, steht außer Zweifel, denn nach seiner Ausschaltung erleiden sie und, damit die Pigmentvermehrung, allmählich eine Beeinträchtigung ihrer Leistung, die — wie im Falle der Vorder- und Hinterstücke — bis zur Sistierung führt. Ob diese Veränderungen nach Ausfall der kernabhängigen Faktoren auf Störungen cytoplasmatischer Vorgänge mit Folgewirkung auf die Plastiden beruhen oder ob Prozesse in diesen selbst in steigendem Maße betroffen werden, ist schwer zu entscheiden. Immerhin ergeben sich Anhaltspunkte, die dafür sprechen, daß die zweite Möglichkeit zumindest teilweise realisiert ist.

Nach früheren Untersuchungen von VANDERHAEGHE (1954) und neueren von CLAUSS (1958) wird die Vermehrung der Plastidenproteine sowohl in kernlosen ganzen Pflanzen als auch in Vorder- und Hinterstücken bereits zu einem Zeitpunkt eingestellt, bei dem nach den hier geschilderten Befunden noch eine deutliche Zunahme der Pigmente

festzustellen ist. Dieses Unvermögen bzw. die unvollständige Neubildung von Plastidensubstanz kann als Ursache einer verminderten Teilungsfähigkeit und Differenzierung der Plastiden angesehen werden, die ihrerseits die Synthese der Plastidenfarbstoffe in Mitleidenschaft zieht.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit ist dadurch gegeben, daß man den — bei *Acetabularia* allerdings noch unbewiesenen — RNS-Anteil der Plastiden, dessen Nachweis in den Chloroplasten höherer Pflanzen in einigen Fällen gelungen ist (Chiba 1951; Metzner 1952; McClendon 1952; Jagendorf u. Wildman 1954), als einen wichtigen Faktor für die autonome Stellung dieser Zellorganelle betrachtet. Der Befund, wonach die Nettosynthese der RNS in kernlosen Pflanzen und deren Teilen sofort eingestellt wird (Richter 1957, 1959), enthält die Möglichkeit, daß auch die Vermehrung der RNS in den Plastiden von der Kernentfernung betroffen wird; eine Auswirkung davon wäre — genau wie im Cytoplasma — ein allmähliches Erlöschen der Proteinsynthese mit den bereits erwähnten möglichen Folgen auf die Pigmentvermehrung (s. o.); auch der normale Ablauf der Plastidenvermehrung und die Funktionstüchtigkeit der entstehenden Teilungsprodukte könnten davon in steigendem Maße beeinflußt werden.

Zusammenfassung

1. Die extrahierten Carotinoide aus den Plastiden von *Acetabularia mediterranea* lassen sich mit Hilfe der Stärkesäule in fünf Hauptfarbstoffe aufteilen: Lutein, β-Carotin, Neoxanthin, Violaxanthin und Xanthophyllepoxyd; diese Reihenfolge gibt auch ihre mengenmäßige Verteilung wieder. Daneben treten noch ein unbekanntes Pigment und Reste des Astaxanthins auf, das bei der angewendeten Extraktionsmethode weitgehend zerstört wird.

2. Bei kernhaltigen Pflanzen besteht eine deutliche Korrelation zwischen Wachstum und Carotinoidgehalt; die quantitative Verteilung der Pigmente bleibt dabei erhalten.

3. Bei kernlosen ganzen Pflanzen von 30 mm Ausgangslänge läßt sich noch am 30. Tag nach Entfernung des kerntragenden Rhizoids eine deutliche Zunahme der Carotinoide feststellen, deren Ausmaß von dem Grad der erreichten Regenerationsleistung abhängt. Die Vermehrung ist am höchsten bei Zellen, die kleine Hüte bilden, am geringsten bei denen, die nur Stielwachstum zeigen. Regenerate mit großen Hüten sind stets zwischen beiden Gruppen einzuordnen. — Alle Pigmente werden hierbei gleichförmig, d. h. unter Beibehaltung der für Normalpflanzen typischen quantitativen Verteilung, vermehrt.

4. Die Zunahme jedes Pigmentes ist in kernhaltigen Pflanzen höher als in entsprechenden kernlosen.

5. Auch kernlose Vorder- und Hinterstücke von 12 mm Ausgangslänge zeigen über einen Zeitraum von 25 Tagen eine deutliche Synthese von Carotinoiden. Zwar übertreffen dabei die Vorderstücke — ihrer stärkeren Formbildungsfähigkeit gemäß — die Leistung der gleichlangen Hinterstücke, jedoch ist diese — gemessen an ihrer geringen Regeneration — erstaunlich hoch. Bei beiden Typen kernloser Teilstücke wird wiederum die charakteristische quantitative Verteilung der Carotinoide beibehalten.

6. Die Chlorophylle in wachsenden kernhaltigen Pflanzen werden gleichförmig linear vermehrt.

7. In kernlosen ganzen Pflanzen von 27 bzw. 30 mm Ausgangslänge erfolgt über einen Zeitraum von 30 Tagen eine stetige Zunahme der Chlorophylle, die jedoch unter der für kernhaltige Pflanzen gleicher Länge und Entwicklungszustandes ermittelten Höhe bleibt.

8. Für gleichlange Vorder- und Hinterstücke (12 mm Ausgangslänge) ist ebenfalls eine Chlorophyllvermehrung charakteristisch, die bis zum 22. Tag nach Herstellung der Teilstücke noch meßbar war; auch hier fällt die unverhältnismäßig hohe synthetische Leistung der weitgehend regenerationsuntüchtigen Hinterstücke auf.

9. Die Beziehungen zwischen Pigmentsynthese, Plastidenvermehrung und anderen synthetischen Leistungen kernloser Zellen und Zellteile von *Acetabularia* werden erörtert; Art und Ausmaß der Abhängigkeit dieser Prozesse von der Wirkung des Zellkerns werden diskutiert.

Literatur

BETH, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen Acetabularia-Zellen. Z. Naturforsch. 8b, 334—342 (1953). — BRACHET, J., and H. CHANTRENNE: The function of the nucleus in the synthesis of cytoplasmic proteins. Cold Spr. Harb. Sym. quant. Biol. **21**, 329—337 (1956). — BRACHET, J., H. CHANTRENNE et F. VANDERHAEGHE: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. Acetabularia mediterranea. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — BUKATSCH, F.: Über den Einfluß verschiedener mineralischer Ernährung. Phyton **3**, 173—183 (1951). — CHIBA, Y.: Cytochemical studies on chloroplasts. I. Cytologic demonstration of nucleic acids in chloroplasts. Cytologia (Tokyo) **16**, 259—264 (1951). — CHODAT, F., et E. HAAG: C. R. Soc. Phys. Hist. natur. **57**, 265 (1940). Zit. nach GOODWIN 1952. — CLAUSS, H.: Über quantitative Veränderungen der Chloroplasten- und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von Acetabularia mediterranea. Planta (Berl.) **52** 334—350 (1958). — COMAR, C. L., and F. P. ZSCHEILE: Analysis of plant extracts for chlorophyll a and b by a photoelectric spectrophotometric method. Plant Physiol. **17**, 198—209 (1942). — GOODWIN, T. W.: The comparative biochemistry of the carotenoids. London: Chapman and Hall 1952. — Carotenoids. In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, herausgeg. von K. PAECH u. M. V. TRACEY. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — GOODWIN, T. W., and M. JAMIKORN: Unpublished observations 1953. Zit. nach GOODWIN 1955. — HÄMMERLING, J.: Über formbildende Substanzen bei

Acetabularia mediterranea, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934a). — Über Genomwirkung und Formbildungsfähigkeit bei Acetabularia. Arch. Entwickl.-Mech. Org. **132**, 424—462 (1934b). — Regenerationsversuche an kernhaltigen u. kernlosen Zellteilen von Acetabularia Wettsteinii. Biol. Zbl. **54**, 650—665 (1934c). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Nucleocytoplasmic relationships in the development of Acetabularia. Int. Rev. Cytol. **2**, 475—498 (1953). — Nucleus and cytoplasm in Acetabularia. 8. Congr. Intern. de Bot., C. R. Séances et Rapp. et Communic. déposés lors du Congr. dans la section **10**, 87—103 (1957). — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6**, 1958 (im Druck). — HAGER, A.: Zur Chromatographie der lipoidlöslichen Blattfarbstoffe. Planta (Berl.) **48**, 592—621 (1957). — JAGENDORF, A. T., and S. G. WILDMAN: The proteins of green leaves. VI. Centrifugal fractionation of tobacco leaf homogenates and some properties of isolated chloroplasts. Plant Physiol. **29**, 270—279 (1954). — MCCLENDON, J. H.: The intracellular localisation of enzymes in tobacco leaves. I. Identification of components of the homogenate. Amer. J. Bot. **39**, 275—282 (1952). — METZNER, H.: Cytochemische Untersuchungen über das Vorkommen von Nukleinsäuren in Chloroplasten. Biol. Zbl. **71**, 257—272 (1952). — RICHTER, G.: Zur Frage der RNS-Synthese in kernlosen Teilen von Acetabularia. Naturwissenschaften **44**, 520—521 (1957). — Die Auswirkungen der Zellkern-Entfernung auf die Synthese von RNS und Cytoplasma-Proteinen bei Acetabularia. Biochim. biophys. Acta 1959 (im Druck). — RICHTER, G., and H. NAORA: Biochim. biophys. Acta 1959 (im Druck). — VANDERHAEGHE, F.: Les effets de l'enucleation sur la synthèse des proteines chez Acetabularia mediterranea. Biochim. biophys. Acta **15**, 281—287 (1954). — WISSELINGH, C. v.: Über Variabilität und Erblichkeit. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **22**, 65—126 (1920).

Dr. GERHARD RICHTER, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. HÄMMERLING, Wilhelmshaven, Anton-Dohrn-Weg

Planta, Bd. 52, S. 276—319 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Kiel

ÜBER DIE FRUCHTENTWICKLUNG DER GATTUNG DORSTENIA, INSBESONDERE ÜBER IHREN TURGESCENZ-SCHLEUDERMECHANISMUS*

Von

GERTRUD SCHLEUSS

Mit 39 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. Juni 1958)

I. Bau und Funktion des Schleudermechanismus von *D. contrayerva* L.

Auf die eigenartige Verbreitungseinrichtung der *Dorstenia*-Früchte haben schon BAILLON (1870) und MÜLLER (1883) aufmerksam gemacht. Erst durch die eingehenden Untersuchungen von OVERBECK (1924) wurde der Turgescenz-Schleudermechanismus in seinen Einzelheiten bekannt und seine Wirkungsweise aufgeklärt. Die Beobachtungen beschränkten sich jedoch nur auf die Früchte von *D. contrayerva*. Meine Untersuchungen haben daher zum Ziel, die Entwicklung der Früchte, den Bau und die Leistungsfähigkeit ihres Verbreitungsmechanismus auch für weitere Vertreter der Gattung *Dorstenia* zu klären.

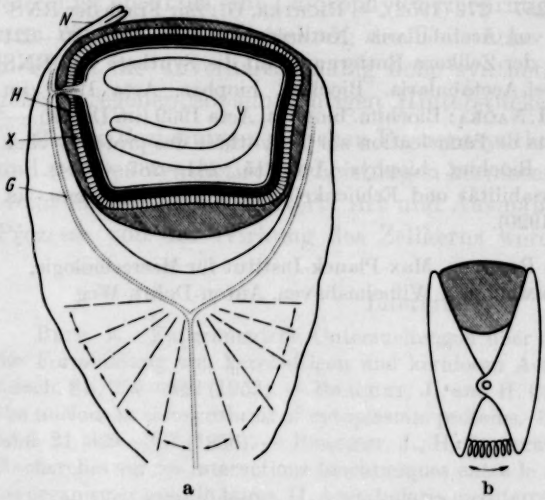


Abb. 1. a Schematischer Längsschnitt durch die reife Frucht. *N* Narbe, *H* Hartschicht, *X* Inhaltskörperführende Schicht, *G* Gefäßbündel. b Modell des Zangenmechanismus. Aus OVERBECK (1924)

Da wir zum Vergleich immer wieder auf *D. contrayerva* zurückgreifen müssen, sei über diese Art in kurzer Zusammenfassung der Befunde von OVERBECK (1924) folgendes vorausgeschickt:

Der fleischige Teil der Steinfrucht stellt eine Zange dar, zwischen deren Armen der Steinkern, das Geschoß, ruht (Abb. 1a). Dem Druck dieser Zange gegenüber bildet der Steinkern eine starre Widerlage. Die Verteilung des Drucks ist abhängig von der Gestalt und Anordnung

* Dissertation der Philosophischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

der Schwellgewebszellen in der Zange (Abb. 2). Vom Drehpunkt der Zange strahlen radial die eigentlichen Schwellzellen aus, die langgestreckt und an den Enden so zugespitzt sind, daß sie lückenlos ineinandergreifen. Im gespannten Zustand haben sie das Bestreben, sich abzurunden; dabei wird der längere Durchmesser der Zellen verkürzt, der kleinere verlängert. Die Lenkung des Drucks im basalen Teil der Zange geht somit in tangentiale Richtung und bewirkt das Zusammen-

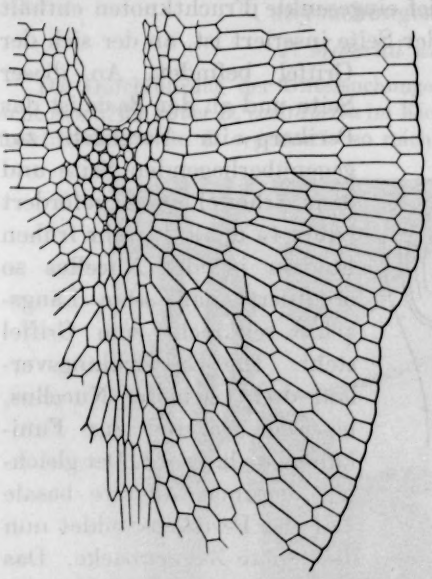


Abb. 2. Längsschnitt durch den unteren Teil der Zange. Aus OVERBECK (1924)

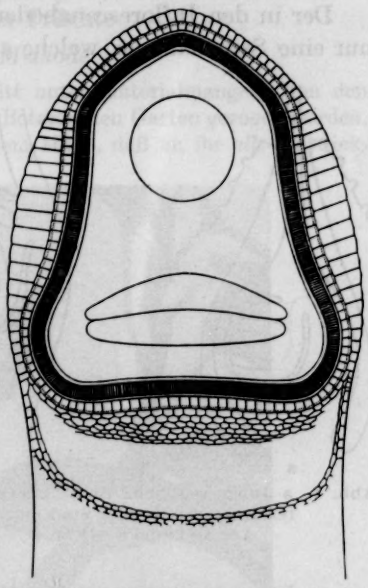


Abb. 3. Längsschnitt durch die Frucht, senkrecht zur Ebene der Abb. 1a. Aus OVERBECK (1924)

klappen der beiden Zangenarme. Auf den Innenflanken der Zangenarme liegen kleine runde Zellen mit verdickten Membranen, die dem Verlängerungsbestreben der Zangenarme einen Widerstand entgegensetzen. Für das Funktionieren des Mechanismus ist das Vorhandensein dieser festen Schicht von großer Bedeutung, da sie einen Teil der kreisförmig wirkenden Kräfte auf den Steinkern umlenkt. Die von den beiden Zangenarmen auf den Steinkern ausgeübten Drucke bilden einen Winkel miteinander, woraus eine Kraft in Richtung der Flugbahn des Steinkerns resultiert.

Die Abtrennung der Zange vom Geschoß wird schon in frühen Stadien vorbereitet. Der entstandene Hohlraum im Winkel der beiden Zangenarme wird von den Geschoßflanken aus nur noch von einer dünnen Haut überspannt (Abb. 3). Über diesem Hohlraum bleibt am Steinkern eine fleischige Schicht, die an der stärksten Stelle aus 6 bis 8 Zellagen besteht.

Wenn bei der Reife die Hemmung durch Zerreißen und Verschleimen des Trennungsgewebes aufgehoben wird, klappen die beiden Zangenarme zusammen und schleudern dabei den Steinkern fort. Ein Modell (Abb. 1b) veranschaulicht den Mechanismus, der mit einer Zange vergleichbar ist, deren obere Arme durch Auseinanderdrücken der unteren geschlossen werden. Über die Entwicklung der Frucht ist folgendes bekannt:

Der in den Inflorescenzboden tief eingesenkte Fruchtknoten enthält nur eine Samenanlage, welche an der Seite inseriert ist, an der sich der Griffel befindet. An dieser Seite und an der Basis ist das Perikarp im Vergleich zur gegenüberliegenden Seite und dem Scheitel stark gefördert (Abb. 4a u. b). In sehr frühen Stadien ist der Nucellus so orientiert, daß seine Längsachse senkrecht zum Griffel steht. Im Entwicklungsverlauf dreht sich der Nucellus, bis sein Scheitel zur Funikulusseite hinweist. Der gleichfalls herumgewanderte basale Teil des Perikarps bildet nun die zweite Zangenbacke. Das innere Integument verwächst über dem Nucellus; von ihm bleibt nur eine Zellreihe erhalten, die eine schwache, unverholzte Samenschale bildet. Hinsichtlich der aus vier Zellagen bestehenden Steinkernwand sei auf OVERBECK (1924) verwiesen.

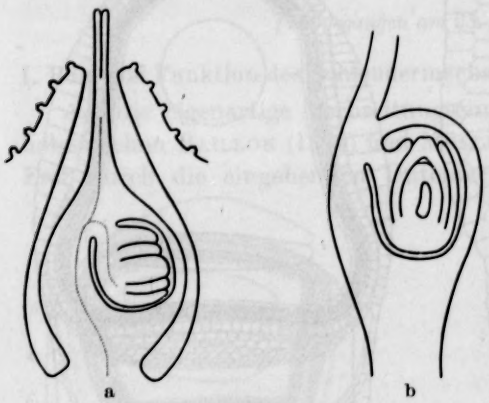


Abb. 4. a Junge weibliche Blüte, b Fruchtknoten in etwas älterem Stadium. Aus OVERBECK (1924)

II. Charakteristik der Gattung *Dorstenia* L.

Die Dorstenien, im tropischen Afrika und Amerika beheimatet, stellen eine sehr formenreiche Gattung der Moraceen dar. Sie tragen kleine unscheinbare Blüten mit verwachsenem Perianth, die zu mehreren auf einem verbreiterten Achsenorgan (Receptaculum) angeordnet sind. Die Inflorescenzen, die beide Geschlechter enthalten, sind rund, stern- oder schiffchenförmig oder auch verzweigt und tragen am Rande Brakteen. Die weiblichen Blüten sind in der Minderzahl; ihr Fruchtknoten enthält nur eine Samenanlage, die sich zu einer Steinfrucht entwickelt. In den männlichen Blüten ist noch der rudimentäre Fruchtknoten vorhanden. Sie besitzen ein bis vier Staubblätter. Der großen Zahl der Lebensformtypen entsprechend, zeichnen sich auch die vegetativen Teile durch eine außerordentliche Mannigfaltigkeit aus (vgl. ENGLER 1898). Neben stengellosen Arten gibt es kriechende Formen (*D. variegata* ENGL.), Kräuter mit aufrechten Stengeln (*D. psilurus* WELW.), Sträucher mit verholzten Stengeln (*D. multiradiata* ENGL.) und sogar eine baumähnliche Art (*D. gigas* SCHWEINF.). Einige Formen haben ein

Rhizom, das verzweigt oder unverzweigt, ober- oder unterirdisch ist. Das unterirdische Rhizom von *D. contrayerva* ist reich an ätherischen Ölen. Andere Arten besitzen Knollen. Die Blätter stehen rosettenförmig, auch die Inflorescenzen wachsen direkt aus der Knolle, oder von dieser gehen ein oder wenige Sprosse aus mit axillär entstehenden, mehr oder weniger gestielten Blättern und Inflorescenzen. Die Rezeptakeln stehen paarweise am Grunde der Blattachseln. In den überwiegenden Fällen ist die linksstehende Inflorescenz allein entwickelt.

III. Entwicklungsgeschichtliche, morphologische und anatomische Untersuchungen der Früchte

1. Material und Methode

Die Durchführung der Untersuchungen litt unter Materialmangel. Von den acht Arten, die außer *D. contrayerva* im Kieler Botanischen Garten gezogen werden, fruktifizierte allein *D. argentea* in so reichlichem Maße, daß an ihr *alle* Entwick-

Abb. 5. *D. nervosa*

lungsstadien der Frucht untersucht werden konnten. *D. erecta* wie *D. ceratosanthes* zeigten nur vereinzelt befruchtete Samenanlagen. Durch die von den Botanischen Gärten in Göttingen und Bonn zugeschickten Pflanzen konnte das Untersuchungsmaterial noch um zwei Arten, *D. elata* und *D. volkensii*, und einige fast reife Früchte der bei uns sterilen *D. nervosa* vermehrt werden[1].

Häufig werden die Dorstenien in den Botanischen Gärten falsch benannt (vgl. auch Krause 1931). Um Irrtümer zu vermeiden, seien die von mir untersuchten Arten kurz beschrieben und diese Charakteristik in einigen Fällen durch Photographien ergänzt.

Untersucht wurden aus der Sektion *Eudorstenia*[2]:

1. *D. nervosa* Desv. (Abb. 5).

Rand des runden Receptaculums nach oben umgeschlagen, mit kurzen, spitzen Brakteen besetzt, rotviolett. Blätter entlang der Mittelrippe mit einem breiten hellen Streifen, unbehaart.

---

[1] Herrn Gartenoberinspektor H. Jacobsen (Kiel) und den Direktionen der Botanischen Gärten Göttingen und Bonn danke ich sehr für ihre freundliche Mithilfe bei der Beschaffung des Pflanzenmaterials.

[2] Englers (1898) Einteilung.

2. *D. argentea* HOOK. (Abb. 6).

Inflorescenzboden kreisförmig, von zähnchenartigen Brakteen umgeben. Weibliche Blüten in der Mitte des Receptaculums angeordnet, von den randständigen männlichen Blüten umgeben. Schmale Blätter mit einem silbernen Streifen um die Mittelrippe, Inflorescenz und Blätter kurz gestielt.

3. *D. ceratosanthes* LODD. (Abb. 7).

Langgestielte Inflorescenz, gabelig verzweigt, oberseits braun gefärbt, am Rande lange Brakteen. Blätter pfeilförmig, langgestielt, unterseits borstig behaart.

Abb. 6. *D. argentea*

4a. *D. psilurus* WELW. (Abb. 8).

Langgestreckte, grüne Inflorescenz, geht an den Enden in je eine Braktee über, wobei die endständige länger ist als die grundständige. Blätter grob gezähnt, Blattrippen unterseits leicht behaart.

4b. In die „*psilurus*"-Gruppe gehörende Pflanze, wahrscheinlich *D. scabra* ENGL. (Abb. 9).

Unterscheidet sich von *D. psilurus* durch die ganzrandigen, gewellten Blätter.

5. *D. convexa* DE WILD. (Abbildung 10).

Konvex gebogene Inflorescenz, hellbraun gefärbt, kurze gelbe Brakteen Blätter und Inflorescenzen mit kurzen Stielen.

6. *D. multiradiata* ENGL. (Abbildung 11).

Receptaculum (Durchm. 4 cm) von etwa 30 Brakteen umgeben, die am Grunde verwachsen sind und so einen 4 mm breiten Saum bilden. Blätter kahl.

7. *D. erecta* VELL. (Abb. 12).

Grüne, runde Inflorescenz (Durchm. 4 cm), am Rande schuppenförmige Brakteen. Blätter ober- und unterseits weich behaart, charakteristisch die weißen Flecken in der Nähe der Blattrippe.

8. *D. elata* GARDN.

Rundes, zusammengebogenes Receptaculum, langgestielt, schuppenförmige Brakteen am Rande. Große, lederartige Blätter, Blattrippen unterseits borstig behaart.

Aus der Sektion *Kosaria*:

9. *D. volkensii* ENGL.

Inflorescenz sternförmig, an den Ecken je eine längere Braktee, an den Seiten wenige kleinere Brakteen, am Grunde sind diese zusammengewachsen und bilden einen schmalen Saum um den Blütenboden.

Von den aufgeführten Arten wurden Mikrotomschnitte der verschiedenen Entwicklungsstadien der Früchte hergestellt. Die zerkleinerten Inflorescenzen wurden nach CARNOY fixiert, dann auf die übliche Weise in Paraffin eingebettet.

Das Fixieren älterer Stadien bereitet wegen der begonnenen Verholzung Schwierigkeiten, da die Fixierflüssigkeit nicht eindringen kann, zudem die verholzten

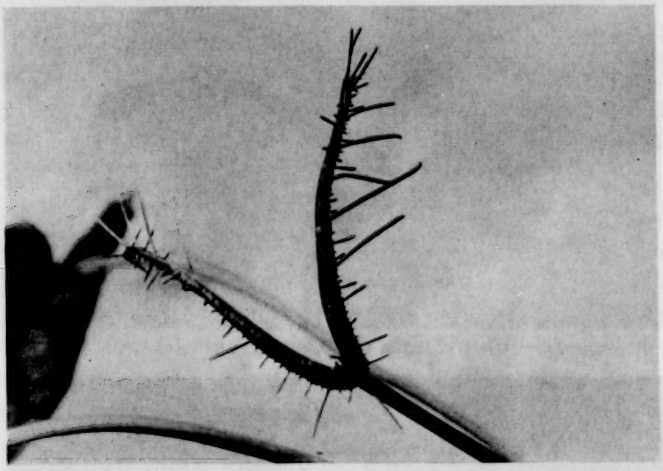


Abb. 7. *D. ceratosanthes*

Abb. 8. *D. psilurus*

Abb. 9. *D. scabra*

Wände härter als das Paraffin sind. Von diesen Stadien wurden Schnitte mit dem Gefriermikrotom hergestellt. Nach der Färbung mit Safranin wurden die Schnitte in Caedax eingeschlossen.

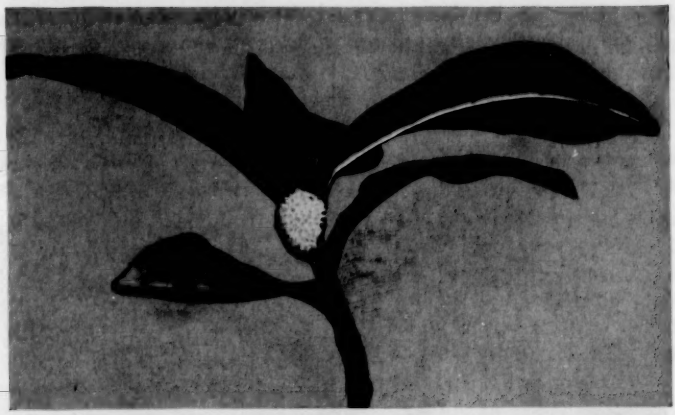


Abb. 10. *D. convexa*

Abb. 11. *D. multiradiata*

Abb. 12. *D. erecta*

2. Entwicklung und Bau der Früchte

Die Untersuchung ergab, daß alle hier erwähnten Arten den bemerkenswerten Schleudermechanismus besitzen. Als Beispiel sei die Entwicklung des Schleuderapparates von *D. argentea* näher beschrieben.

a) Entwicklung des Schleuderapparates bei *D. argentea*. Der in Abb. 13 dargestellte Entwicklungsgang zeigt eine weitgehende Übereinstimmung mit OVERBECKs (1924) Untersuchungsergebnissen an *D. contrayerva*.

Das Perikarp der in die Inflorescenz tief eingesenkten weiblichen Blüten ist ungleich entwickelt. Auf der Seite, an der die einzige Samenanlage inseriert ist, und an der Basis ist die Wandung des Perikarps stärker ausgebildet als auf der dem Funiculus gegenüberliegenden Seite. Im Laufe der Entwicklung dreht sich der Nucellus, wobei der basale Teil des Perikarps mit heraufwandert, so daß jetzt außer der Basis zwei gegenüberliegende Seiten des Perikarps stark verdickt sind, die dann den Schleuderapparat bilden.

Die Anordnung der Schwellzellen in der Zange ist die gleiche, wie sie OVERBECK (1924) für *D. contrayerva* dargestellt hat (Abb. 2). Vom Zangendrehpunkt, der über der Stelle liegt, wo sich die Leitbündel der beiden Zangenarme treffen, strahlen die langgestreckten Zellen radial aus. In den Hebelarmen liegen die Zellen senkrecht zu deren Längsrichtung. Die Festigung der Zange wird sicher nicht nur durch die verdickten Zellen auf den Innenflanken der Zangenarme gewährleistet, sondern auch dureh das Leitgewebe, das einen beträchtlichen Teil der Zange an der Innenseite einnimmt. Außer den in den jugendlichen Stadien vorhandenen Spiralgefäßen finden sich in den reifen Stadien noch Tracheiden, durch die das Leitbündel eine gewisse Starrheit und Reißfestigkeit erlangt.

Zur Zeit der Reife durchbrechen die Früchte die Inflorescenzoberfläche. Bei Plasmolyse zeigen die Zellen des Schwellgewebes die auch von OVERBECK (1924) beobachtete Membranquellung.

Nach ECKARDT (1937) ist das Gynaeceum der Dorstenien pseudomonomer. Es besteht aus zwei Karpellen, von denen nur eines beherrschend in Erscheinung tritt und so Monomerie vortäuscht (Abb. 14). An *D. contrayerva* konnte auch durch eigene Beobachtung bestätigt werden, daß zuweilen noch beide Karpelle fertil sind. Der schraffierte Teil in Abb. 14b entspricht dem von OVERBECK (1924) beschriebenen, stärker entwickelten Teil des Perikarps, der die schon in jungen Stadien vorhandene erste Zangenbacke liefert. Der dünnwandige Teil des Perikarps, der den Nucellusscheitel überspannt, entspricht dem fertilen Karpell, dem die Fruchtknotenhöhlung mit der Samenanlage angehört.

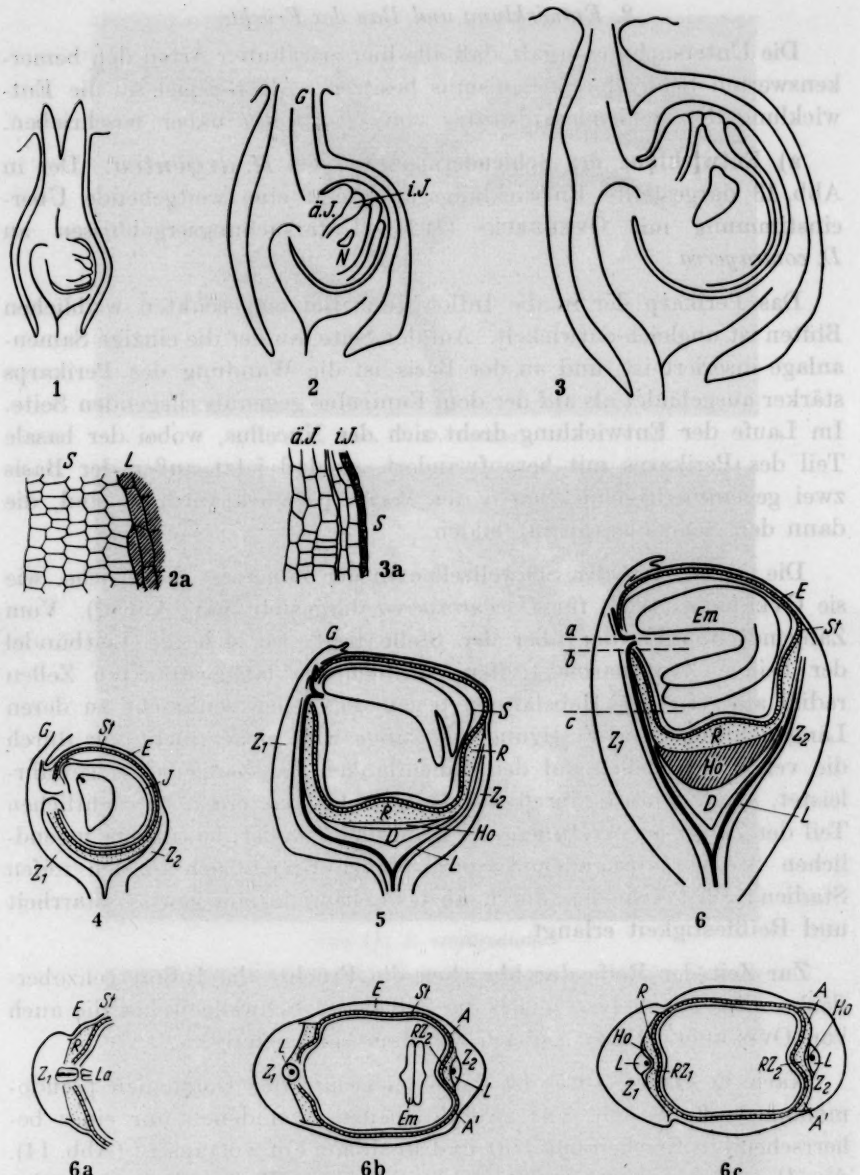


Abb. 13. Die Fruchtentwicklung bei *D. argentea*. Die Figuren 1—6 stellen Längsschnitte durch Fruchtknoten in der Ebene der beiden Zangenarme dar. 1 Die Längsachse durch den Nucellus steht senkrecht zum Griffel. Letzterer ist noch nicht seitlich orientiert. Während der Fruchtknoten an der Basis und auf der Funiculusseite dickwandig ist, wird der Nucellusscheitel nur von einer dünnen Haut überspannt. 2 Der Nucellus hat sich etwas gedreht, dadurch ist der Griffel ein wenig zur Seite gerückt. *G* Griffel; *ä. I.* äußeres Integument; *i. I.* inneres Integument; *N* Nucellus. In diesem Stadium ist die Anordnung der späteren Schwellgewebszellen schon deutlich. 2a zeigt einen Ausschnitt aus dem dickwandigen Teil des Fruchtknotens mit der Anordnung der späteren Schwellgewebszellen, *S* Schwell-

(Fortsetzung der Legende siehe nächste Seite)

Gleichzeitig mit der Drehung des Nucellus wird der dickwandige, basale Teil dieses Karpells nach oben verschoben und bildet die zweite Zangenbacke.

Im pseudomonomeren Gynaeceum kommt den reduzierten Karpellen nach ECKHARDT (1937) im allgemeinen keine besondere biologische Bedeutung zu. Den bekannten Beispielen[1], in denen das sterile Karpell noch eine Rolle spielt, kann somit ein weiterer Fall hinzugefügt werden, indem nämlich das sterile Karpell des *Dorstenia*-Gynaeceums einen wichtigen Teil des Schleuderapparates der Früchte bildet. Aus der Kenntnis des Aufbaus des Gynaeceums aus zwei Karpellen wird die eigenartige Konstruktion des Verbreitungsmechanismus als Zangenmechanismus verständlich.

Insoweit brachte die Untersuchung über die Entstehung des Schleuderapparates von *D. argentea* also keine wesentlich neuen Ergebnisse gegenüber *D. contrayerva*. Betrachtet man nun aber Längsschnitte durch den Fruchtknoten, die senkrecht zur Ebene der beiden Zangenarme gelegt sind (Abb. 15, 1—3), fällt eine Besonderheit auf. Die Steinkernwand hat sich an der Basis des Steinkerns nach innen eingebuchtet. Schon in einem sehr frühen Stadium beginnt die spätere Hartschicht sich zum Nucellus hin vorzuwölben. Diese Wölbung wird

gewebe; *L* angrenzendes Leitgewebe. 3 Der Nucellusscheitel steht jetzt in Richtung des Griffels, der noch weiter zur Seite gerückt ist. Das innere Integument wächst über dem Nucellus zusammen. 3a Die dem Nucellus anliegende Reihe des inneren Integuments hebt sich durch ihren Plasmareichtum besonders ab, *ä. I.* u. *i. I.* Integumente; *S* plasmareiche Zellen des inneren Integuments. 4 Nach Anlage des Embryos dreht sich der Nucellus zur Funiculusseite hin. Gleichzeitig ist der basale Teil des Perikarps nach oben gewandert und bildet eine noch kleine Zangenbacke, *G* Griffel; *St* Steinkernwand [Hart-, Kristall-, Inhaltskörper-führende Schicht, vgl. OVERBECK (1924)]; *E* Epidermis; *I* inneres und äußeres Integument; Z_1, Z_2 Zangenbacken. 5 Der Embryo (*Em*) ist fast ausgebildet. Von den Integumenten bleibt nur die eine Zellreihe übrig, die sich in den vorhergehenden Stadien durch den Plasmareichtum abhob und bildet eine schwach verholzte Samenschale (*S*). *R* Rinnengewebe, welches die Gleitrinne ausfüllt (Näheres im Text u. Abb. 14); *D* Zangendrehpunkt, *Ho* Hohlraum, Zange und Steinkern beginnen auseinanderzuweichen, indem das sie verbindende Trennungsgewebe aufreißt; *L* Leitgewebe, Z_1, Z_2 Zangenbacken; die Schwellgewebszellen sind noch ungestreckt, deshalb erscheint die Zange noch klein. 6 Abschußbereite Frucht. Die Zange ist jetzt mächtig entwickelt. Der Hohlraum (*Ho*) hat sich stark vergrößert. *E* Epidermis; *St* Steinkernwandung; *R* Rinnengewebe; *L* Leitgewebe. a, b und c geben die Ebenen an, durch die die Querschnitte 6a, 6b und 6c gelegt sind. Die Figuren 6a—6c zeigen Querschnitte durch die reife Frucht. 6a *La* abgebrochenes Leitbündel, welches von der Zange in den Steinkern übergeht, die Bruchstelle liegt fast innerhalb des Steinkerns, so daß an der Zangenbacke Z_1 ein kleiner Dorn zurückbleibt. 6b Das Leitbündel (*L*) ist am Zangenarm Z_1 dem Schwellgewebe weit vorgelagert. Auf der gegenüberliegenden Seite greift das im Gegensatz dazu weniger vorgelagerte Leitbündel in die vorgebildete Höhlung des Steinkerns (RZ_2). An den Ansatzstellen der Zangenarmränder am Steinkern *A* u. *A'* ist die Steinkernwand zum Schwellgewebe hin vorgebuchtet. 6c Das zum Zangenarm Z_1 gehörende Leitbündel (*L*) greift ebenfalls in die Einbuchtung (RZ_1) des Steinkerns. *R* Rinnengewebe, das zwischen Steinkernwand und Schwellgewebe gelagert ist und beim Abschuß des Steinkerns an diesem haften bleibt. *Ho* Hohlraum; RZ_2 Einbuchtung des Steinkerns unter dem Zangenarm Z_2 (vgl. Abb. 15, 4); *A* u. *A'* Ansatzstellen der Zangenarmränder am Steinkern

[1] Scheingriffel bei *Broussonetia*; zusammen mit den Placentarpartien des fertilen Karpells Karpophor bei *Bouchea* (*Verbenac.*).

in späteren Stadien immer stärker, so daß eine Höhlung entsteht, die mit dem fleischigen Gewebe angefüllt ist, das nachher am abgeschleuderten Steinkern haften bleibt (vgl. Abb. 3). Die Zellen der Inhaltskörper-führenden Schicht haben sich in dieser Einbuchtung der Steinkernwand um das Zwei- bis Dreifache ihrer ursprünglichen Länge gestreckt (Abb. 15, 2b). In älteren Stadien findet man häufig die Verbindung zur Kristallschicht aufgelöst. Das die Eindellung ausfüllende Gewebe ist sehr zart, der körnige Inhalt gibt mit Chlorzinkjod eine tiefe braunrote Färbung.

Eine nähere Untersuchung ergab, daß nicht nur am Grunde des Steinkerns, sondern auch dort, wo die Zangenarme dem Kern ansitzen, die Steinkernwand eingebuchtet ist.

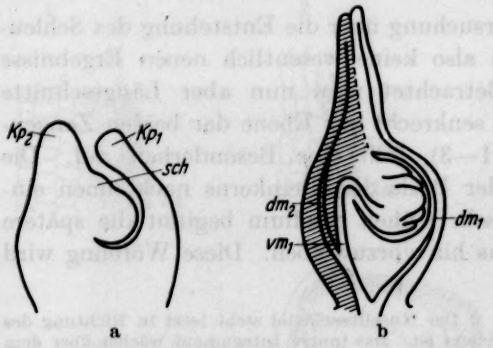


Abb. 14a u. b. Längsschnitt durch den Fruchtknoten von *D. psilurus*. a Erste Andeutung der Samenanlage. *sch* Rest der Scheidewand, Kp_1 fertiles Karpell, Kp_2 steriles Karpell. b Samenanlage fertig ausgebildet. dm_1 und vm_1 Dorsal- und Ventralmedianus des fertilen Karpells; dm_2 Dorsalmedianus des sterilen Karpells (schraffiert). Nach ECKARDT (1937)

Betrachtet man einen reifen, von der Zange befreiten Steinkern unter der Lupe, dann erkennt man unter dem Zangenarm Z_1 (trägt den Griffel) eine schmale Rinne, die in die breitere Basisrinne übergeht; dagegen hat die gleichfalls breitere Einbuchtung unter dem Zangenarm Z_2 keine Verbindung zu der Rinne an der Basis. Ein noch deutlicheres Bild dieses Rinnensystems gewinnt man, wenn man einen Steinkern öffnet und dessen Inhalt entfernt (Abb. 15, 4). Die Aufgliederung der nach innen vorstehenden Rinne in drei Teile (eine Basis- und je eine zu einem Zangenarm gehörende Rinne) ist sehr ausgeprägt. Der Basisteil und die unter dem Zangenarm Z_1 liegende Rinne gehen leicht ineinander über.

Die besondere Lage der Einbuchtung der Steinkernwand unter den Zangenarmen legt die Vermutung nahe, daß sie mit der Wirkungsweise des Schleudermechanismus in einem Zusammenhang steht. Handelt es sich bei dieser Ausbildung um eine Rinne, in der die Zangenarme beim Abschuß entlanggleiten? Durch diese Führung könnte dann ein gerichtetes Abschießen der Kerne erfolgen. Die Rinne ist jedoch im Verhältnis zum Querschnitt der Zangenarme sehr schmal und außerdem mit dem zarten Gewebe (*R*) ausgefüllt. Bei den abgeschleuderten Steinkernen ist dieses Gewebe zerdrückt. Wahrscheinlich wird die Gleitschmiere nicht nur von den schmalen Trennungszellen, sondern auch

von diesem am Geschoß haftenden Gewebe geliefert. Wenn nur die Zangenspitzen in der Rinne entlangfahren, ist eine Lenkung des Geschosses in eine bestimmte Bahn nicht gewährleistet, weil das Geschoß dann drehbar aufgehängt wäre. Es galt daher das Profil der Innenflanken der Zangenarme daraufhin zu untersuchen, ob irgendwelche Vorsprünge vorhanden sind, die in diese Höhlungen des Steinkerns hineingreifen.

Zu diesem Zweck wurden Querschnitte durch die Frucht angefertigt (Abb. 13, 6a—6c). Das die Einbuchtung des Steinkerns ausfüllende Gewebe (*R*), das beim Abschuß des Steinkerns zerdrückt wird und dessen schleimiger Inhalt als Gleitschmiere dient, gleicht die Eindellung der Geschoßwand unter dem Zangenarm Z_2 nicht vollkommen aus. In diese gebildete Rille ragt nun das vorgelagerte Leitbündel *L* der Zangenbacke hinein. Dort, wo die Ränder des Zangenarmes dem Steinkern aufliegen, ist dessen Wandung etwas vorgewölbt, das ansitzende Schwellgewebe eingebuchtet. Zange und Steinkern sind so ineinander gepaßt, daß eine regelrechte Schienenführung zustande kommt. Auf der gegenüberliegenden Seite, unter dem Zangenarm Z_1, ist die Leiste, die durch das vorgelagerte Leitbündel gebildet wird, sehr viel ausgeprägter. Schon makroskopisch ist auf der Innenflanke der Zange das außerhalb des Schwellgewebes liegende Leitbündel zu erkennen, das zum Griffel hin in einen vorspringenden Dorn ausläuft (Abb. 15, 6). Beim Fortschleudern des Steinkerns muß das Leitbündel an der Stelle, wo es in den Steinkern umbiegt, abgetrennt werden. Schon in dem Stadium, das in Abb. 13, 5 dargestellt ist, wird die Bruchstelle vorgebildet; diese liegt zum Geschoß hin vorgerückt, so daß an der Zangeninnenflanke ein kleiner Dorn zurückbleibt. Entfernt man von einer noch nicht reifen Frucht die Zange, dann kann es vorkommen, daß das Leitbündel unterhalb der Umbiegungsstelle zum Steinkern abbricht, und zwar an der Basis des Zangenarmes, wo sich das heraustretende Bündel wieder in das Schwellgewebe einsenkt (Abb. 15, 5). Es liegt etwas in die schmale Rinne des Steinkerns unter dem Zangenarm Z_1 eingesenkt und reicht bis zur Einmündung in die breitere Rinne an der Basis des Steinkerns hinab.

Durch Anwendung eines Kunstgriffes kann man nun den Schleudervorgang beobachten. Unter der binocularen Lupe hält man den Steinkern mit einer Pinzette fest, während man mit einer Präpariernadel die Haut, die den Hohlraum zwischen dem Steinkern und den Zangenarmen überspannt, durchsticht und damit den Ausschleudervorgang auslöst. Die Zange löst sich vom Steinkern, wobei die Zangenspitzen in den Rinnen entlangfahren.

Diese Untersuchungsergebnisse legen die Vermutung nahe, daß die *Einbuchtung der Geschoßwand als Gleitrinne für die Zangenarme* dient. Da durch die Versuche zur Bestimmung der Leistungsfähigkeit

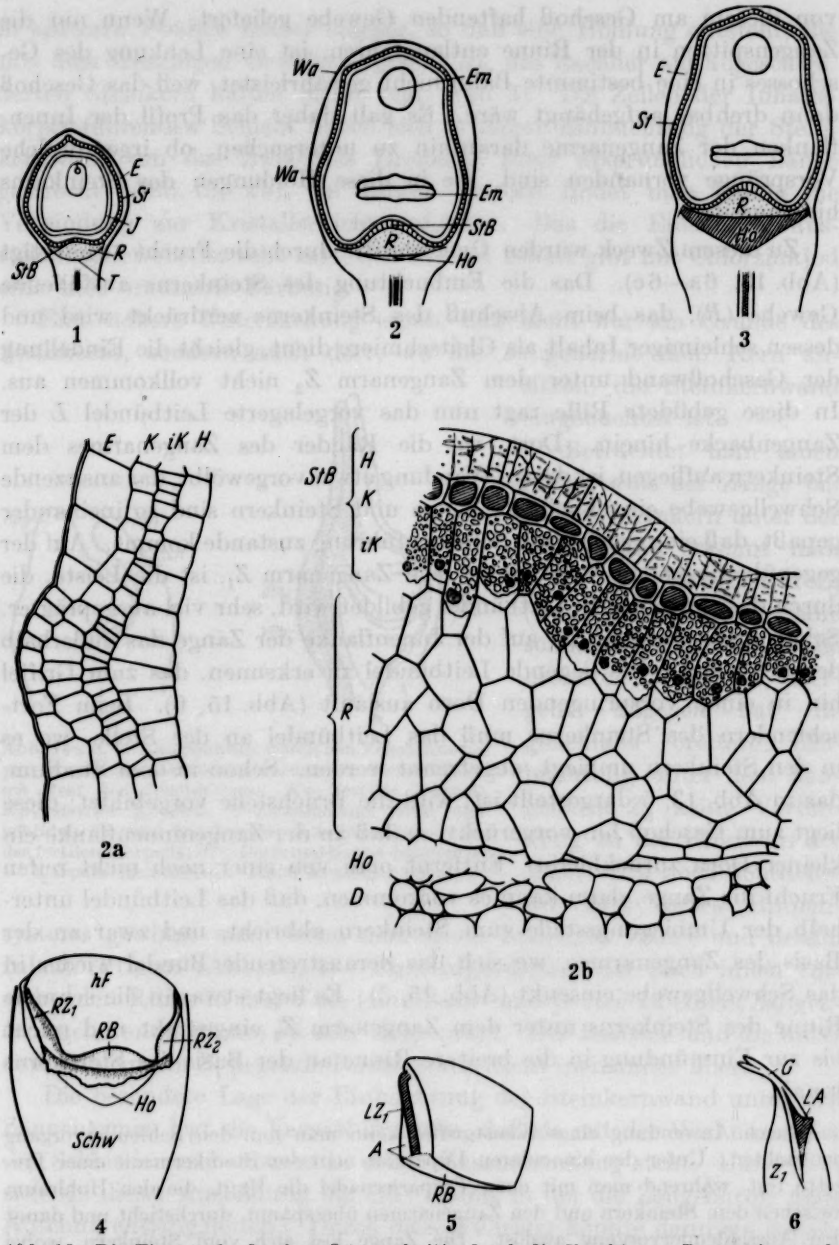


Abb. 15. Die Figuren 1—3 zeigen Längsschnitte durch die Frucht von *D. argentea*, senkrecht zu den in Abb. 13 dargestellten Längsschnitten; die Zangenarme sind nicht mitgetroffen. 1 Fruchtknoten eben vor Beginn der Embryobildung (etwa das gleiche Stadium wie in Abb. 13, Fig. 4); *E* Epidermis; *St* Steinkernwand; *I* Integumente; *StB* Einbuchtung der Steinkernwand nach innen; *R* Rinnengewebe; *T* Trennungsgewebe. 2 Ein älteres Stadium; die Einbuchtung *StB* der Steinkernwand an der Basis des Steinkerns ist soweit

(Fortsetzung der Legende siehe nächste Seite)

des Verbreitungsmechanismus Anhaltspunkte für die Bedeutung der Gleitschiene im Schleudermechanismus geliefert werden, soll im Kapitel V näher auf diese Ausbildung eingegangen werden.

Auf den Längsschnitten durch die Frucht, die senkrecht zur Ebene der beiden Zangenarme gelegt sind, fallen außerdem die großen Epidermiszellen auf. Wie OVERBECK (1924) bemerkt, gleichen diese langgestreckten Zellen die Unebenheiten, die durch die Wellungen der Hartschicht entstehen, zu einer glatten Oberfläche des Geschosses aus. Die Geschoßflanken von *D. argentea* sind jedoch warzig. Die Warzen sind am Außenrand der Geschoßflanken angeordnet. Durch die Vergrößerung der Zellen der Hartschicht entsteht eine Aufwölbung, die nur wenig durch verkleinerte Epidermiszellen ausgeglichen wird (Abb. 15, 2 u. 2a). Möglicherweise dient diese rauhe Oberfläche dem besseren Anhaften des abgeschleuderten Steinkerns am Untergrund. Für den Schleudervorgang ist nur die Oberflächenbeschaffenheit des Steinkerns an der Ansatzstelle des Schwellgewebes von Bedeutung (Abb. 13, 6b, 6c: *A* u. *A'*).

b) Ausbildung von Geschoß und Zange der übrigen Arten des Untersuchungsmaterials. Geschoß und Zange der einzelnen Arten unterscheiden sich nur in den Ausmaßen.

Die auffällige Gleitrinne an der Geschoßwand findet sich in gleicher Anordnung außer bei *D. argentea* auch bei *D. elata*, *D. erecta*, *D. ceratosanthes*, *D. nervosa*. Bei *D. nervosa* ist die Einbuchtung verhältnismäßig tief und ihre Öffnung verengt (Abb. 16). Da es sich bei *D. volkensii* um zugeschicktes Pflanzenmaterial handelte, das nur die frühen Entwicklungsstadien enthält, konnte die endgültige Ausbildung der Gleitrinne nicht untersucht werden. Die jungen Stadien zeigen aber schon deutlich eine Eindellung der Geschoßwand.

fortgeschritten, daß sich eine Rinne gebildet hat, die mit dem zarten Gewebe *R* ausgefüllt ist. *Em* Embryo; *Ho* Hohlraum; *Wa* bezeichnet die Stellen, wo auf den Geschoßflanken die Warzen angeordnet sind. 2a Längsschnitt durch eine Warze (*Wa*) der Geschoßflanke. *H* Hartschicht (Zellen langgestreckt); *iK* Inhaltskörper-führende Schicht; *K* Kristallschicht; *E* Epidermis. 2b Cellulärer Ausschnitt aus der Basisrinne. *StB* Teil der Steinkernwand, der sich an der Basis des Steinkerns nach innen vorwölbt (*H* Hartschicht, Zellen stark verholzt, Membranen gewellt; *K* Kristallschicht, die Oxalatkristalle füllen fast die ganze Zelle aus; *iK* Inhaltskörper-führende Schicht, ihre Zellen sind in dieser Höhlung des Steinkerns besonders langgestreckt. Die von der Seite der Kristallschicht aus beginnende Bildung der Inhaltskörper ist schon soweit fortgeschritten, daß die Zellen gänzlich damit angefüllt sind); *R* Rinnengewebe, der schleimige Inhalt dieser Zellen dient beim Abschuß als Gleitschmiere (*StB* + *R* Querschnitt durch *RB*, vgl. Fig. 4); *Ho* Hohlraum zwischen Steinkern und Zange, das zweireihige Trennungsgewebe *T* (vgl. Fig. 1) ist zerrissen. *D* Zellen des Zangendrehpunktes. 3 Reife Frucht. Der Hohlraum (*Ho*) wird an den Flanken nur noch von einer dünnen Haut überspannt. *E* Epidermis; *St* Steinkernwand; *R* Rinnengewebe. 4 Blick in einen geöffneten, vom Inhalt befreiten Steinkern. *hF* hintere Flanke des Geschosses; RZ_1 Einbuchtung des Steinkerns unter dem Zangenarm Z_1, die in die Basisrinne *RB* übergeht; RZ_2 die durch die Einbuchtung der Steinkernwand entstandene Rinne unter dem Zangenarm Z_2; *Ho* Hohlraum zwischen Steinkern und Zange; *Schw.* Schwellgewebe. 5 Steinkern mit dem anhängenden, zum Zangenarm Z_1 gehörenden Leitbündel LZ_1; *A* Ansatzstellen für das Schwellgewebe; *RB* Basisrinne. 6 Zangenarm (Z_1), an dessen Innenflanke das abgebrochene Leitbündel (*La*) vorsteht und so einen kleinen Dorn bildet. *G* Griffel

Die im Gewächshaus sterilen Arten *D. psilurus*, *D. scabra*, *D. convexa*, *D. multiradiata* erreichen nur das in Abb. 13, 3 dargestellte Entwicklungsstadium von *D. argentea*. Eine Wölbung der Hartschicht konnte nicht festgestellt werden, die bei den fertilen Arten in diesem Stadium schon deutlich vorhanden ist.

Der celluläre Aufbau der Zangen zeigt keinen Unterschied zu dem von *D. contrayerva* (Abb. 2). Wie schon bei *D. argentea* erwähnt, ist die Anordnung der späteren Schwellzellen in den jüngsten Stadien erkennbar. Bei allen sind die Schwellzellen in den Zangenarmen in fünf Reihen angeordnet (Abb. 2; Abb. 13, 2a). Eine Ausnahme macht *D. convexa*, bei der sogar acht Zellreihen vorhanden sind; sollte diese Art einmal Früchte ansetzen, müßten sie mächtige Zangen entwickeln.

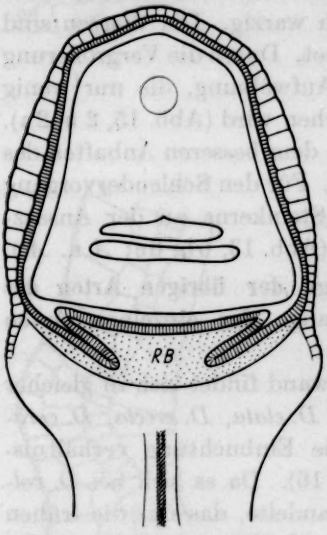


Abb. 16. Längsschnitt durch die Frucht von *D. nervosa*, senkrecht zur Ebene der beiden Zangenarme. *RB* Basisrinne im Querschnitt

Das Schwellgewebe aller Arten zeigt bei Plasmolyse eine starke Membranquellung, wie schon von OVERBECK (1924) für *D. contrayerva* beschrieben. Der Wassergehalt des Schwellgewebes steigt bei *D. argentea*, *D. erecta*, *D. ceratosanthes* von 79% im unreifen Zustand auf 93% im reifen Zustand.

Der gleiche Bau der Früchte der einzelnen Arten bedingt auch die gleiche Wirkungsweise des Verbreitungsmechanismus, jedoch sind auf Grund der unterschiedlichen Größe der Früchte Unterschiede in der Leistungsfähigkeit des Schleuderapparates zu erwarten.

IV. Zur Systematik der Gattung *Dorstenia* L.

Versuche, die Dorstenien systematisch zu ordnen, sind oft unternommen worden (vgl. KRAUSE 1931). Wie aus der Literatur ersichtlich, ist das natürliche System noch nicht gefunden worden.

BUREAU (1873) teilte die Dorstenien nach der Form des Receptaculums und dem Wuchs der Pflanze ein. ENGLER (1898) benutzte die Griffelform als Unterscheidungsmerkmal: Arten mit zweilappigem Griffel gehören zur Sektion *Nothodorstenia*, wenn Brakteen außer am Rande auch an der Unterseite der Inflorescenz vorhanden sind; *zur Sektion Eudorstenia*, wenn nur der Inflorescenzrand mit Brakteen besetzt ist. In die Sektion *Kosaria* gehören alle Arten mit ungeteiltem Griffel.

GOLENKIN (1894) untersuchte die Entwicklungsgeschichte der Inflorescenzen. Nach diesen Studien sind die ersten Entwicklungsstadien bei allen Arten gleich. Die mannigfaltigen Inflorescenzformen lassen sich daher auf eine gemeinsame

Form zurückführen, nämlich auf die runde Inflorescenz (*D. erecta*, *D. nervosa*, *D. argentea*). Durch verstärktes Wachstum an einzelnen Stellen, Sistierung von Vegetationspunkten und gleichzeitiges Einschalten weiterer Vegetationspunkte an anderen Stellen ergeben sich als Ableitung von den runden Inflorescenzen die schiefen, gelappten Inflorescenzen (*D. contrayerva*, *D. caulescens*) und die gabeligen Inflorescenzen (*D. ceratosanthes*), durch Ausbleiben der Dichotomie des Vegetationspunktes die schiffchenförmige Inflorescenz (*D. Massonii*, *D. psilurus*).

Fries (1913—14) fordert, die natürliche Gruppierung innerhalb der artenreichen Dorstenien nicht nur auf Grund der floralen, sondern auch der vegetativen Merkmale vorzunehmen. Seine Untersuchungen an afrikanischen Arten ergaben, daß die unterirdische Stammknolle wichtige Anhaltspunkte zur systematischen Einteilung liefert. Fries unterscheidet den Placentiformis-Typ (Knolle halbkugelförmig mit ebener oder konkaver Oberseite, ein oder mehrere Sprosse gehen von der Knollengrube aus, axilläre Inflorescenzen, Blätter schmal, fast ungestielt, Receptaculum scheibenförmig) vom *Unyikae*-Typ (Knolle rund, oft aus mehreren zusammengesetzt, Sproß- und Inflorescenzanordnung wie beim *Placentiformis*-Typ, Blätter jedoch breiter und langgestielt). Nach Fries sind alle Dorstenien, die nach dem Placentiformis-Typ gebaut sind, Eudorstenien, dagegen die zum Unyikae-Typ gehörenden Kosaria-Arten.

Die cytologischen Befunde Krauses (1931) lassen sich auffallend mit den Inflorescenzformen in Einklang bringen. Die Grundform hat haploid die Chromosomenzahl 14 (*D. erecta*). Die davon abgeleiteten Formen zeichnen sich durch eine Erhöhung (in Amerika beheimatete Arten: *D. contrayerva*, *D. argentea*, *D. elata*, *D. nervosa*) oder Erniedrigung der Chromosomenzahl (in Afrika beheimatete Arten: *D. convexa*, *D. multiradiata*) aus. Die Inflorescenz von *D. argentea* ist trotz der runden Form gegenüber *D. erecta* als abgeleitet zu betrachten, da hier die Blüten regelmäßig angeordnet sind, die weiblichen Blüten stehen gesondert in der Inflorescenzmitte, die männlichen am Inflorescenzrand.

Nach den oben aus der Literatur zitierten Angaben deckt sich Englers System etwa mit der Gruppierung der Arten nach Fries (1913—14); Golenkins (1894) aufgestellte phylogenetische Reihe der Inflorescenzformen stimmt mit Krauses (1931) Einteilung überein.

Meine entwicklungsgeschichtlichen, morphologischen und anatomischen Untersuchungen der *Dorstenia*-Früchte haben ergeben, daß die Früchte wegen ihres einheitlichen Baues zur systematischen Einteilung der Dorstenien keine Merkmale liefern. Vielleicht wäre es aber für weitere systematische Arbeiten lohnend, auf die Ausbildung der Samenanlage innerhalb dieser Gattung besonderes Gewicht zu legen. Nach Modilewskys (1908) genetischen Untersuchungen gibt es innerhalb der Gattung *Dorstenia* Arten, die sich parthenogenetisch fortpflanzen (*D. contrayerva*), und solche, die sich miktisch fortpflanzen (*D. tuneraefolia*). *D. contrayerva* unterscheidet sich von *D. tuneraefolia* nicht nur durch die Fortpflanzungsart, sondern auch durch den Bau der Samenanlage. Während der Nucellus von *D. contrayerva* vollkommen von den zwei Integumenten umhüllt wird, sind bei *D. tuneraefolia* nur auf der dem Funiculus abgewendeten Seite Integumente vorhanden (Abb. 17a und b). Auf der Funiculusseite entsteht ein mächtiger Wulst, der sich über die Samenanlage verbreitet und später mit dem inneren Integument

verwächst. MODILEWSKY betrachtet diesen Wulst als Auswuchs des Funiculus, „weil man schon in jungen Stadien in ihm keine Spuren einer Integumentverschmelzung bemerkt". Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang eine Abbildung der Samenanlage von *D. multiradiata* (Abb. 17 c) bei ENGLER (1898). Hier sind auch nur auf der einen Seite des Nucellus Integumente eingezeichnet.

In Eigenuntersuchungen wurde die Entwicklungsgeschichte der Integumente mehrerer *Dorstenia*-Arten verfolgt. Nur bei *D. argentea* und *D. elata* sind die Integumente nach dem *Contrayerva*-Typ gebaut. Die an *D. tuneraefolia* von MODILEWSKY (1908) als Besonderheit hervorgehobene Integumentausbildung findet sich bei der Mehrzahl der untersuchten Arten (*D. erecta*, *D. psilurus*, *D. scabra*, *D. nervosa*, *D. convexa*, *D. ceratosanthes*, *D. multiradiata* und *D. volkensii*), vgl. Abb. 18.

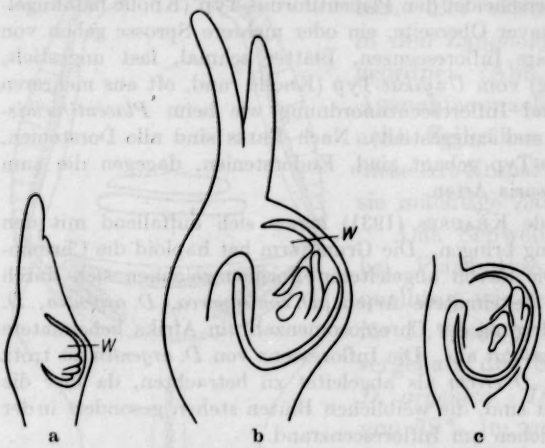


Abb. 17. a u. b Längsschnitt durch den Fruchtknoten von *D. tuneraefolia*, *W* Wulst. Nach MODILEWSKY (1908). c Längsschnitt durch den Fruchtknoten von *D. multiradiata*. Nach ENGLER (1898)

Als Beispiel für diese eigenartige Integumentbildung ist in Abb. 19 die *Entwicklung der Samenanlage von D. convexa* dargestellt. Der von MODILEWSKY (1908) beschriebene Wulst, der später Integumentfunktion ausübt, bildet sich sehr früh. Noch bevor der Nucellus, das innere und das äußere Integument angelegt werden, ist dieser Wulst schon erkennbar. Im Entwicklungsverlauf zeichnet er sich gegenüber dem Nucellus und den Integumenten durch ein stark gefördertes Wachstum aus. MODILEWSKYs Ansicht, daß es sich bei diesem Auswuchs *nicht* um ein späteres Verwachsungsprodukt von innerem und äußerem Integument handelt, kann nach diesen Untersuchungen bestätigt werden. Wie bei *D. tuneraefolia* verwächst auch bei *D. convexa* auf späteren Stadien das innere Integument mit dem Wulst, während das äußere Integument in seiner Entwicklung zurückbleibt.

Als Beweis für den pseudomonomeren Aufbau des *Dorstenia*-Gynaeceums führt ECKARDT (1937) unter anderem an, daß in einigen Fällen auf frühen Entwicklungsstadien noch ein Rest der Scheidewand vorhanden ist, der später durch das Längenwachstum des Griffels gänzlich verwischt wird (Abb. 14a). Nach meinen Untersuchungen ist dieser

„verbliebene Teil der Scheidewand", an dessen Grund sich die Samenanlage differenziert, identisch mit dem von MODILEWSKY (1908) beschriebenen, als Auswuchs des Funiculus angesehenen Wulst. ECKARDTs

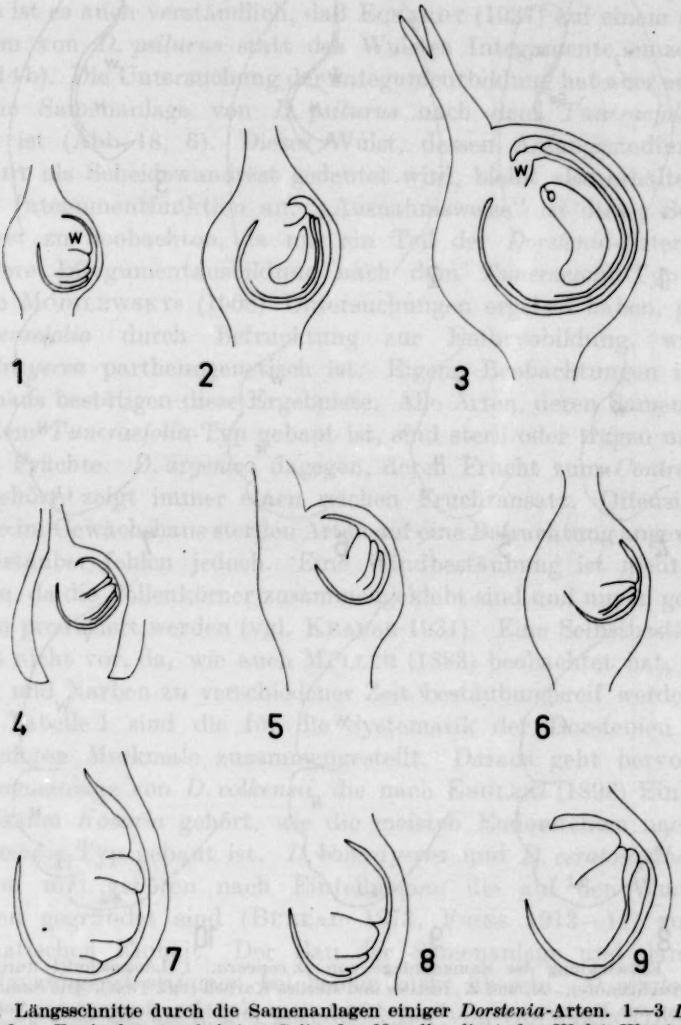


Abb. 18. Längsschnitte durch die Samenanlagen einiger *Dorstenia*-Arten. 1—3 *D. erecta*; auf der dem Funiculus zugekehrten Seite des Nucellus liegt der Wulst *W*. 4 *D. elata*, Samenanlage nach dem *Contrayerva*-Typ. 5 *D. volkensii*, ebenso wie bei 6 *D. psilurus* Samenanlage nach dem *Tuneraefolia*-Typ. 7 Samenanlage von *D. contrayerva*. 8 *D. multiradiata* und 9 *D. nervosa* Samenanlage nach dem *Tuneraefolia*-Typ

(1937) Annahme, der noch ausgebildete Teil der Scheidewand wäre nur „ausnahmsweise und nur auf bestimmten Entwicklungsstadien zu beobachten", läßt sich folgendermaßen erklären: Wie aus Abb. 19 zu ersehen ist, vergrößert sich der Wulst ungemein schnell. Verfolgt man

die Entwicklungsgeschichte der Samenanlage in etwas größeren Abständen, so vermutet man nicht, daß der mächtige Auswuchs, der der

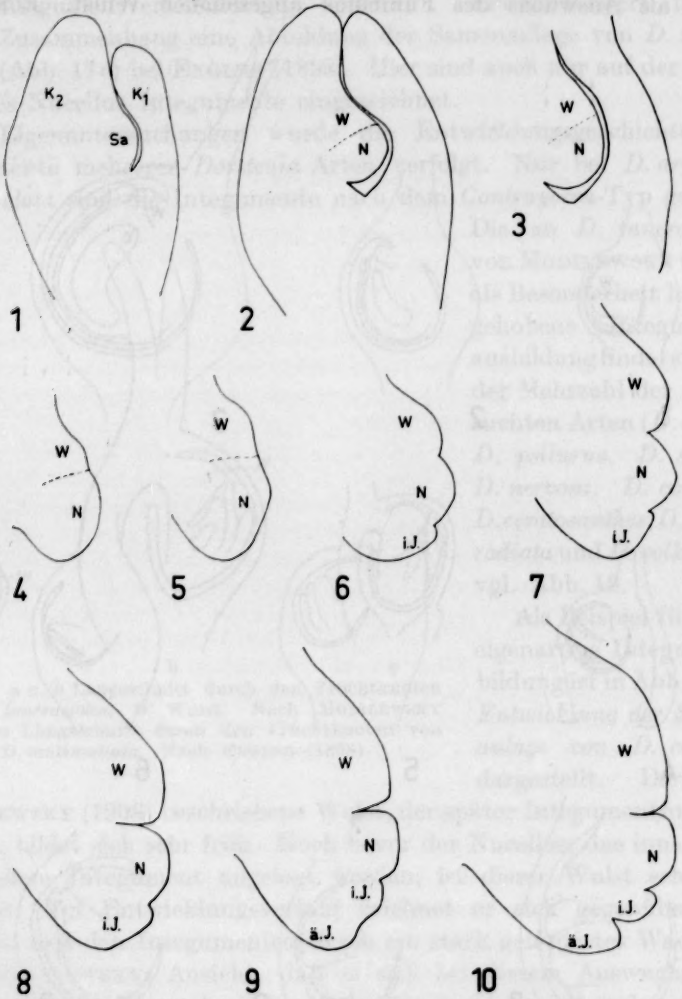


Abb. 19. Entwicklung der Samenanlage von *D. convexa*. 1 Längsschnitt durch einen jungen Fruchtknoten. K_1 und K_2 fertiles und steriles Karpell (vgl. Text). Die Samenanlage *Sa* kommt zur Entwicklung. 2 *N* bezeichnet einen Komplex plasmareicher Zellen, aus denen der Nucellus hervorgeht. Aus *W* geht der spätere Wulst *W* hervor. 3 Ein etwas älteres Stadium der sich differenzierenden Samenanlage. 4 Der von MODILEWSKY (1908) beschriebene Wulst *W* bildet sich. 5 Der Wulst wölbt sich weiter vor, der Nucellus wächst heran. 6 Das innere Integument wird angelegt. 7 u. 8 Der Wulst *W* ist im Wachstum gegenüber dem Nucellus stark gefördert. 9 Das äußere Integument wird angelegt. 10 Integumente und Nucellus wachsen heran. Der Wulst nimmt etwa die Hälfte der Samenanlage ein

Samenanlage anliegt, aus der auf einem früheren Stadium beobachteten leichten Aufwölbung oberhalb des Nucellus hervorgegangen ist (vgl. Abb. 14a und Abb. 19, 4—10, *W*). Die dem Nucellus anliegenden Zellen

dieses Auswuchses zeichnen sich gegenüber dem übrigen Wulstgewebe durch eine leichtere Färbbarkeit aus. Diese Farbunterschiede führen leicht zu dem Irrtum, diesen Wulst für zwei Integumente zu halten. Nur so ist es auch verständlich, daß ECKARDT (1937) auf einem älteren Stadium von *D. psilurus* statt des Wulstes Integumente einzeichnet (Abb. 14b). Die Untersuchung der Integumentbildung hat aber ergeben, daß die Samenanlage von *D. psilurus* nach dem *Tuneraefolia*-Typ gebaut ist (Abb. 18, 6). Dieser Wulst, dessen Anfangsstadium von ECKARDT als Scheidewandrest gedeutet wird, bleibt also erhalten und nimmt Integumentfunktion an. „Ausnahmsweise" ist dieser Scheidewandrest zu beobachten, da nur ein Teil der *Dorstenia*-Arten diese besondere Integumentausbildung nach dem *Tuneraefolia*-Typ zeigt.

Wie MODILEWSKYs (1908) Untersuchungen ergeben haben, gelangt *D. tuneraefolia* durch Befruchtung zur Embryobildung, während *D. contrayerva* parthenogenetisch ist. Eigene Beobachtungen im Gewächshaus bestätigen diese Ergebnisse. Alle Arten, deren Samenanlage nach dem *Tuneraefolia*-Typ gebaut ist, sind steril oder tragen nur vereinzelt Früchte. *D. argentea* dagegen, deren Frucht zum *Contrayerva*-Typ gehört, zeigt immer einen reichen Fruchtansatz. Offensichtlich sind die im Gewächshaus sterilen Arten auf eine Befruchtung angewiesen; die Bestäuber fehlen jedoch. Eine Windbestäubung ist nicht anzunehmen, da die Pollenkörner zusammengeklebt sind und nur in geringen Mengen produziert werden (vgl. KRAUSE 1931). Eine Selbstbestäubung kommt nicht vor, da, wie auch MÜLLER (1883) beobachtet hat, Staubblätter und Narben zu verschiedener Zeit bestäubungsreif werden.

In Tabelle 1 sind die für die Systematik der Dorstenien bisher verwendeten Merkmale zusammengestellt. Daraus geht hervor, daß die Samenanlage von *D. volkensii*, die nach ENGLERs (1898) Einteilung zur Sektion *Kosaria* gehört, wie die meisten Eudorstenien nach dem *Tuneraefolia*-Typ gebaut ist. *D. contrayerva* und *D. ceratosanthes* sind subacaul und gehören nach Einteilungen, die auf den Wuchs der Pflanzen gegründet sind (BUREAU 1873, FRIES 1913—14) zu einer systematischen Einheit. Der Bau der Samenanlage und damit die Fortpflanzungsart stimmen bei beiden nicht überein. *D. ceratosanthes* und *D. nervosa* zeichnen sich gegenüber der von GOLENKIN (1894) und KRAUSE (1931) als Grundform angesehenen *D. erecta* (runde Inflorescenz mit unregelmäßiger Anordnung der Blüten) wie die anderen amerikanischen Arten *D. elata*, *D. argentea* und *D. contrayerva* durch eine Chromosomenzahlerhöhung aus; während die drei letztgenannten Arten Samenanlagen mit ringförmigen Integumenten besitzen, sind die Samenanlagen von *D. ceratosanthes* und *D. nervosa* nur einseitig mit Integumenten versehen. *D. erecta* besitzt eine Samenanlage, die nach dem *Tuneraefolia*-Typ gebaut ist, also den von MODILEWSKY beschriebenen

Tabelle 1. *Zusammenstellung der bisher für die systematische Einteilung der Dorstenien verwendeten Merkmale*

Art	Heimat	Einteilungsmerkmale						
		Wuchs (BUREAU 1873)	Griffelform (ENGLER 1898)	Infloreszenzform (GOLENKIN 1894)	Knolle (FRIES 1913—1914)	Chromosomenzahl (KRAUSE 1931) n	2n	Bau der Samenanlage (eigene Untersuchungen im Anschluß an MODILEWSKY 1908)
D. contrayerva	Amerika	subacaul	Sektion *Eudorstenia* (Griffel gespalten)	Grundform[1] (runde Inflor.)	*Placentiformis*-Typ	15		*Contrayerva*-Typ (Integumente als Ringwälle)
D. argentea						16		
D. elata						16		
D. ceratosanthes		subacaul				16		*Tuneraefolia*-Typ (Nucellus nur einseitig von Integumenten umgeben)
D. nervosa				Grundform			32	
D. erecta				Grundform		14		
D. psilurus	Afrika					14		
D. convexa						12		
D. multiradiata						12		
D. volkensii			Sektion *Kosaria* (Griffel ungespalten)		*Unyikae*-Typ	—	—	

Erhöhung der Chromosomenzahl ↑ / Erniedrigung der Chromosomenzahl ↓

[1] Vgl. Text.

Wulst, der von ECKARDT als Scheidewandrest gedeutet wird, auf der einen Seite des Nucellus hat. Da *D. erecta* der Inflorescenzform nach als Grundtyp der *Dorstenia*-Arten angesehen wird, würde das Vorhandensein des Scheidewandrestes diese Auffassung noch bekräftigen. Ob man den Wulst wirklich für einen Rest der Scheidewand halten darf, scheint doch noch zweifelhaft. Als einziges Beispiel, wo zuweilen noch beide Karpelle des Gynaeceums fertil sind, zwei Samenanlagen und eine Scheidewand ausgebildet werden, ist bisher nur *D. contrayerva* bekannt. In der Samenanlage von *D. contrayerva* ist dieser Wulst aber nicht vorhanden, sondern der Nucellus wird von zwei Integumenten, die als Ringwälle ausgebildet sind, umhüllt.

Diese Beispiele sollen zeigen, daß nach den bisherigen Untersuchungen die Einteilung der Dorstenien nach dem Bau der Samenanlage und damit nach der Fortpflanzungsart nicht mit den vorhandenen Systemen übereinstimmt. Sicher wäre es noch sehr interessant, eine größere Anzahl von Arten der Gattung *Dorstenia* genetisch zu untersuchen und mit den für die Systematik bisher verwendeten Merkmalen in Einklang zu bringen.

V. Prüfung der Leistungsfähigkeit des Schleuderapparates

Um einen Eindruck von der Leistungsfähigkeit des Verbreitungsmechanismus zu erhalten, habe ich im Laboratoriumsversuch nicht nur die Schußweiten der abgegebenen Steinkerne der einzelnen Arten ermittelt und miteinander verglichen, sondern auch die Art der Streuung im Trefferbild berücksichtigt, daneben die Anfangsgeschwindigkeit der Geschosse und die im Mechanismus auftretenden wirksamen Drucke zu bestimmen versucht.

1. Die Schußweiten

Als Versuchspflanzen dienten: *D. argentea*, *D. erecta*, *D. ceratosanthes*. Wegen der geringen Fertilität der Treibhauspflanzen war das Versuchsmaterial sehr knapp, daher wurde auch die reichlich fruktifizierende *D. contrayerva* zu Vergleichsmessungen hinzugezogen.

Versuchsaufbau und -durchführung. Zur genauen Messung der Schußweiten ist es wichtig, daß die Steinkerne an den Aufschlagstellen auch haften. Somit mußte für eine entsprechend klebrige Unterlage gesorgt werden. Das Schußfeld (im Kurssaal des Botanischen Instituts) wurde mit Packpapier, das zur Erleichterung der Messungen in Planquadrate (a = 10 cm) eingeteilt worden war, ausgelegt und dann die gesamte Fläche mit Schmierseife bestrichen. Die Geschosse hafteten so fest an dieser Unterlage, daß sie selbst beim Hochheben oder Umklappen des Papiers nicht abfielen. So konnten durch Entfernen einzelner Papierbogen alle Gebiete des Schußfeldes betreten werden, um die abgeschleuderten Steinkerne ausfindig zu machen. In der Mitte des so eingerichteten Feldes wurde die Versuchspflanze aufgestellt. Um eine Kollision mit dem eigenen Blattwerk zu

vermeiden, wurden die um die schußbereite Inflorescenz stehenden Blätter entfernt. Die Lage der abgegebenen Steinkerne im Schußfeld wurde durch kleine Papierzeichen sichtbar gemacht.

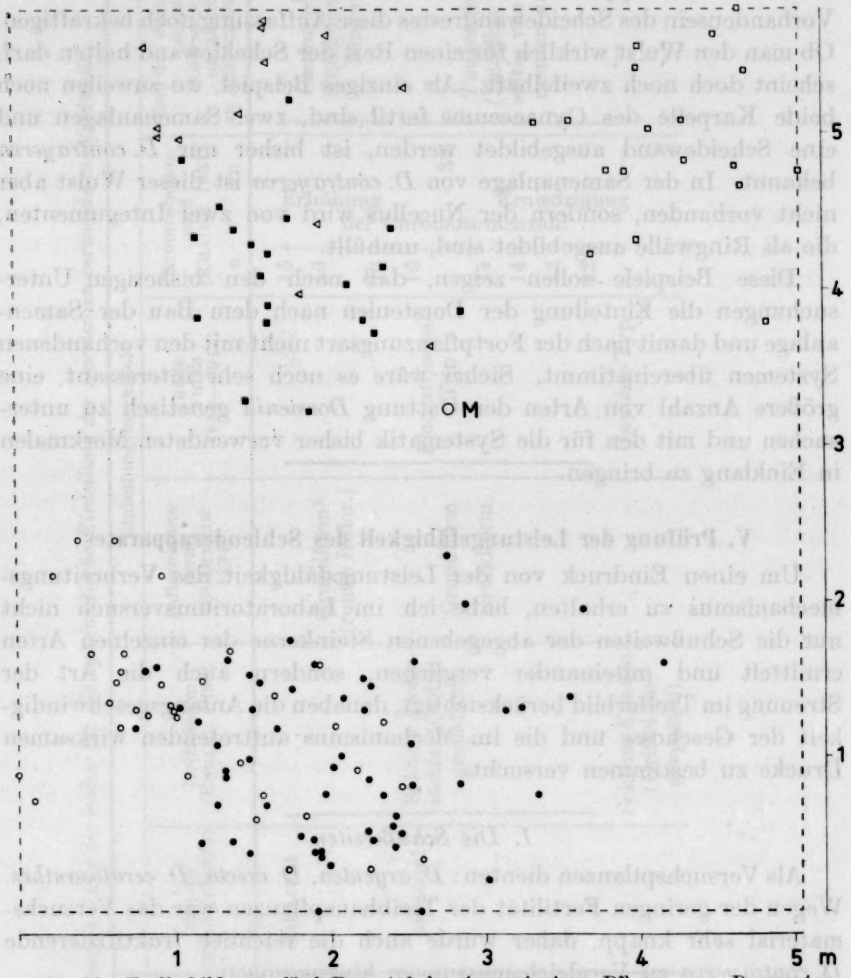


Abb. 20. Trefferbild von fünf Rezeptakeln einer einzigen Pflanze von *D. argentea*. M Standort der Pflanze

Die Aufschlagstellen der Steinkerne werden in den Schußbildern (Abb. 20—24) wiedergegeben. Die Bilder sind so orientiert, daß die Schußrichtung der betreffenden Inflorescenz — darunter wird der senkrecht auf den Mittelpunkt der Inflorescenz fallende und in die Zeichenebene projizierte Strahl verstanden — von unten nach oben zeigt (gestrichelte Linie). Eine Gesamtübersicht der Schußweiten gibt Abb. 25.

Von *D. argentea* wurden im Versuch die Steinkerne von fünf Rezeptakeln aufgefangen. Da immer nur ein Receptaculum zur Zeit reife Früchte enthielt,

war es möglich, diese von den anderen getrennt zu registrieren und mit unterschiedlichen Marken zu versehen. Auf diese Weise erhielt man einen Überblick von der mit den Steinkernen der fünf Rezeptakeln bedeckten Fläche (Abb. 20), und außerdem konnte die Größe des Sektors bestimmt werden, der von einem Receptaculum mit Kernen beschossen wird (Abb. 21, a—e).

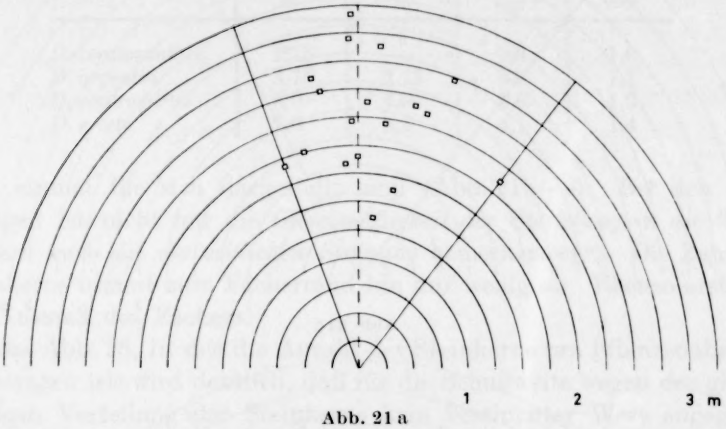


Abb. 21 a

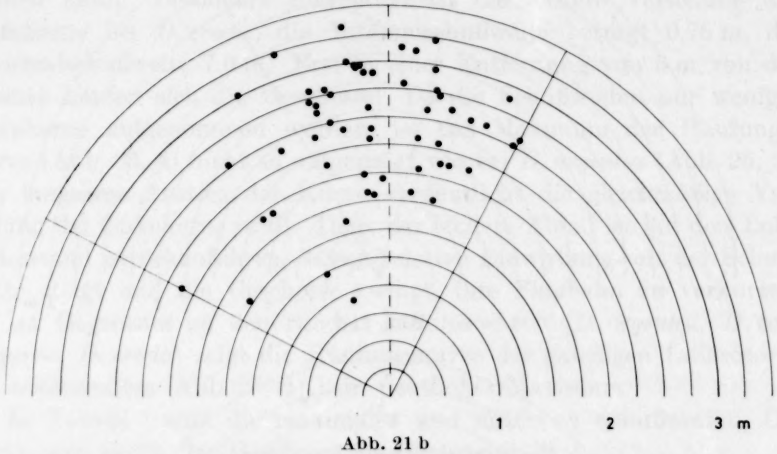


Abb. 21 b

Abb. 21 a—e. Trefferbilder der einzelnen Inflorescenzen von *D. argentea*

Neigungswinkel der schußbereiten Inflorescenzen etwa 45°. Sektorenwinkel α der von den Inflorescenzen beschossenen Flächen und Abstand H der Inflorescenzen vom Erdboden:

Infl.	□	●	○	△	■
α	58°	90°	67°	44°	80°
H (cm)	30,5	36,0	33,0	27,5	26,0

Aus den Trefferbildern wird zweierlei deutlich: 1. In der unmittelbaren Nähe der Pflanze finden sich nur wenige Steinkerne. 2. Die Steinkerne der einzelnen Inflorescenzen sind über einen verhältnismäßig weiten Raum verteilt. Das ist besonders aus den Trefferbildern

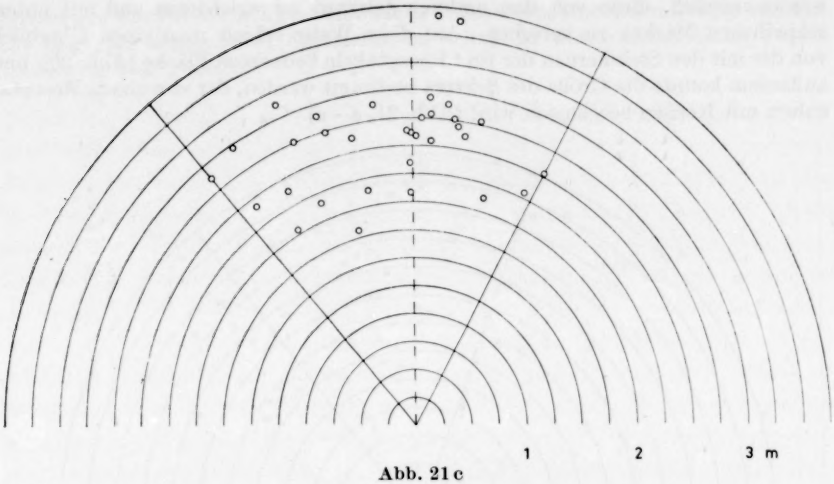


Abb. 21c

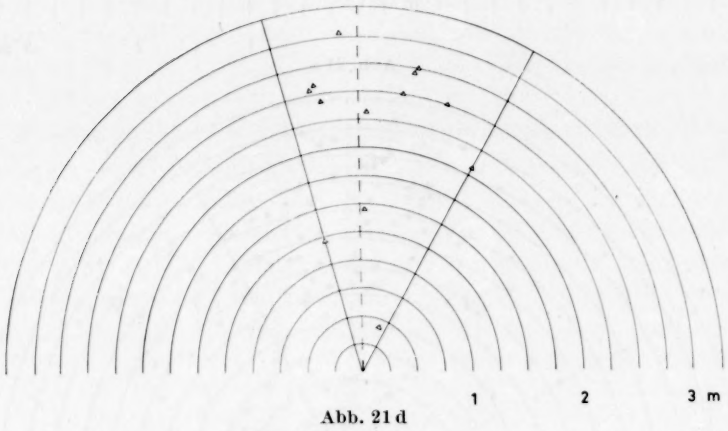


Abb. 21d

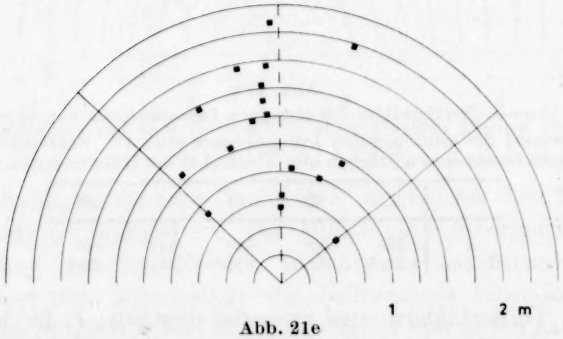


Abb. 21e

ersichtlich, in denen der besseren Übersicht wegen und zur Messung der Schußweiten die Lagen der Steinkerne der einzelnen Inflorescenzen

Tabelle 2. *Zusammenstellung von maximaler und mittlerer Schußweite, Gewicht und Größe der abgeschleuderten Steinkerne*

	Maximale Schußweite m	Mittlere Schußweite m	Gewicht der Steinkerne mg	Länge (= Breite) der Steinkerne mm
D. ceratosanthes	2,75	—	0,8	1,0
D. argentea . .	3,75	2,75	0,9	1,1
D. contrayerva .	5,0	4,0	2,0	1,3
D. erecta . . .	7,0	6,5	4,1	1,4

noch einmal für sich dargestellt sind (Abb. 21a—e). Bei den Aufschlägen ist nicht nur die *Gleichmäßigkeit der Staffelung in die Tiefe*, sondern auch die *der seitlichen Streuung* bemerkenswert. Die Zahl der Steinkerne nimmt zum Fächerrand hin nur wenig ab. Ebenso erstaunt das Ausmaß des Fächers.

Aus Abb. 25, in der die Anzahl der Steinkerne pro Pflanzenabstand eingetragen ist, wird deutlich, daß für die Schußweite wegen der gleichmäßigen Verteilung der Steinkerne kein bestimmter Wert angegeben werden kann. Besonders ausgeprägt ist die lockere Verteilung der Steinkerne bei *D. erecta*; die Minimalschußweite beträgt 0,75 m, die Maximalschußweite 7,0 m. Erst in einer Entfernung von 5 m von der Pflanze häufen sich die Geschosse. Da die Schußweiten nur weniger Steinkerne aufgenommen wurden, ist das Maximum der Häufungskurve (Abb. 25, 4) nicht so ausgeprägt wie bei *D. argentea* (Abb. 25, 2). Der langsame Anstieg der Kurve verdeutlicht die gleichmäßige Verteilung der Steinkerne in die Tiefe, der steilere Abfall ist auf den Luftwiderstand zurückzuführen, dessen relative Einwirkung mit der Schußweite steigt und die Geschosse zwingt, ihre Flugbahn zu verkürzen.

Im Gegensatz zu den runden Inflorescenzen (*D. argentea*, *D. contrayerva*, *D. erecta*) zeigt die Häufungskurve der gabeligen Inflorescenz (*D. ceratosanthes*, Abb. 25, 1) kein deutliches Maximum.

In Tabelle 2 sind die maximalen und mittleren Schußweiten, Gewicht und Größe der Geschosse zusammengestellt.

Als mittlere Schußweite wurde jeweils die dem Maximum der Häufungskurve entsprechende Schußweite angesehen. — Die Größe des Steinkerns wurde bestimmt, indem die Seiten des Rechtecks ausgemessen wurden, in das der Steinkern gerade hineinpaßte. Dabei stellte sich heraus, daß bei allen Steinkernen die Länge annähernd gleich der Breite ist.

Aus dieser Zusammenstellung geht hervor,

1. daß mit zunehmendem Gewicht und zunehmender Größe der Steinkerne die Schußweiten steigen,

2. daß innerhalb der Gattung *Dorstenia* die Leistungsfähigkeit des Verbreitungsmechanismus stark variiert.

2. *Die Verteilung der Steinkerne im Trefferbild*

Sämtliche Schußbilder zeigen eine ziemlich gleichmäßige Verteilung der Geschosse über eine weite Fläche hinweg. Diese Streuung der Steinkerne ist ohne weiteres nicht verständlich. Zieht man die geringe Größe der Inflorescenzen von *D. argentea* (Durchmesser maximal 2 cm) in Betracht und geht von der Vorstellung aus, daß die Geschosse alle unter dem gleichen Winkel abgeschleudert werden, dann müßten sich die Kerne auf einem engen Raum im Schußfeld häufen. Niemals könnte

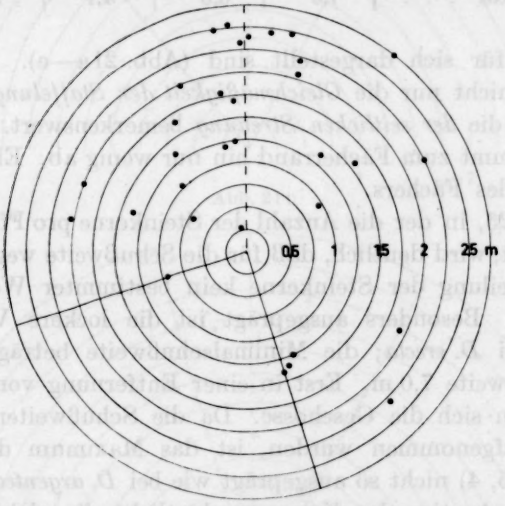


Abb. 22. Trefferbild von *D. ceratosanthes*. Wegen Materialmangel konnten die Steinkerne nur einer Inflorescenz aufgefangen werden. Das Trefferbild zeigt eine außerordentlich weiträumige Verteilung der Aufschläge. Der Fächerwinkel beträgt sogar 270°! Neigung der Inflorescenz: etwa 90°. Abstand der Inflorescenz vom Erdboden: 30 cm

eine einzelne Inflorescenz unter diesen Voraussetzungen einen Kreissektor von 90° mit ihren Keimen bedecken.

Wie kommt diese weiträumige und gleichmäßige Verteilung der Verbreitungseinheiten zustande? Es ist naheliegend, den Abschußwinkeln in diesem Zusammenhang Bedeutung beizumessen. Die Steinkerne könnten unter verschiedenen Winkeln abgeschleudert werden, wenn die Inflorescenzen uneben oder die Früchte in Inflorescenzen mit ebener Oberfläche nicht gleichgerichtet sind, so daß die Zangenöffnungen in voneinander abweichende Richtungen geraten.

Zur Klärung dieser Frage wurde die Inflorescenzform und die Stellung der Früchte zueinander und zur Inflorescenzoberfläche näher untersucht.

Die *Längsachsen der Früchte stehen bei allen Arten senkrecht zur Inflorescenzoberfläche*. Daraus ergibt sich, daß die Zangenöffnungen einer ebenen Inflorescenz (*D. argentea*, *D. ceratosanthes*, *D. erecta*) in die

gleiche Richtung weisen (Abb. 26b). Durch den Inflorescenzbau und die Zangenstellung werden keine variablen Abschußwinkel erzielt. Dagegen geraten die Früchte in gewölbten Rezeptakeln (*D. contrayerva*) in untereinander verschiedene Schußstellungen (Abb. 26a). Zur Reife-

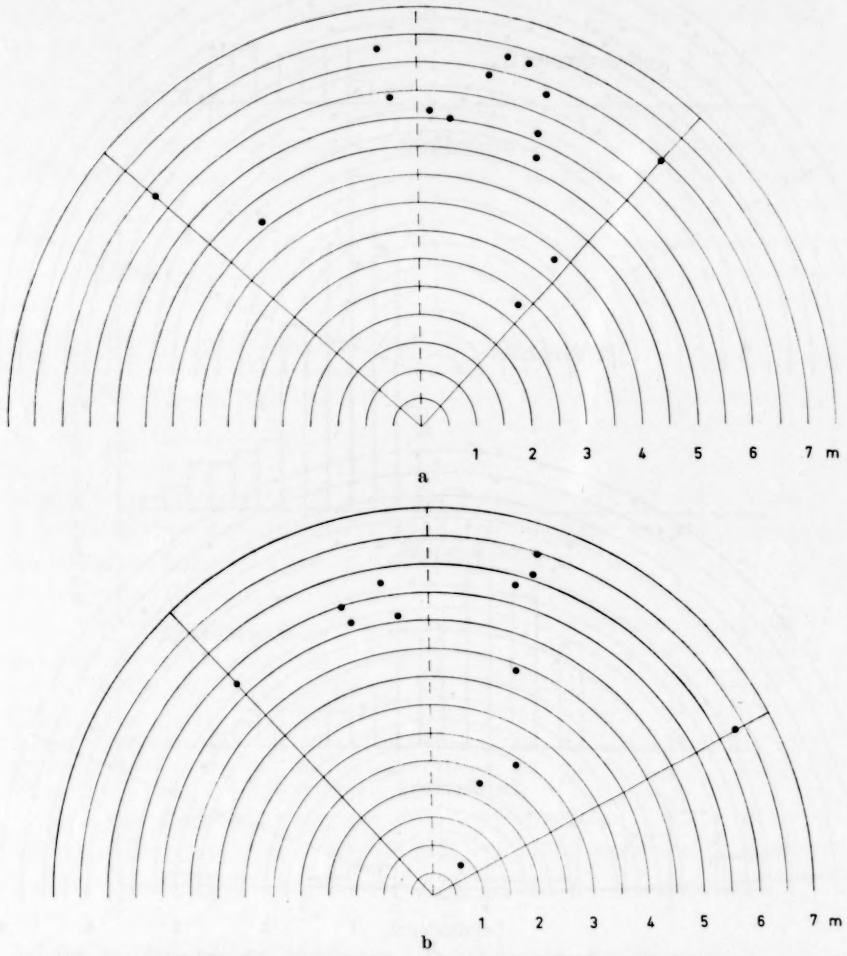


Abb. 23a u. b. Trefferbilder von *D. erecta*. Das Trefferbild zweier Inflorescenzen wurde aufgenommen. Neigung der Inflorescenzen: etwa 45°. Sektorenwinkel: 98° (a), 105° (b). Abstand der Inflorescenzen vom Erdboden: 40 cm (a), 38 cm (b)

zeit zeigen zuweilen aber auch die ebenen Inflorescenzen Wölbungen So ist bei *D. argentea* die Oberfläche des Receptaculums häufig konkav gebogen oder der Rand gewellt.

Das Trefferbild wird daher auch nicht immer von der gestrichelten Linie, die die Schußrichtung der Inflorescenz angibt, halbiert. In Abb. 21b liegen rechts von dieser Linie nur 22, links davon aber 35 Steinkerne. Die Inflorescenz war in

diesem Fall auf der rechten Seite etwas nach oben gebogen. Die Früchte dieses Teils nahmen eine Schußrichtung ein, die um einen größeren Winkel zu der der

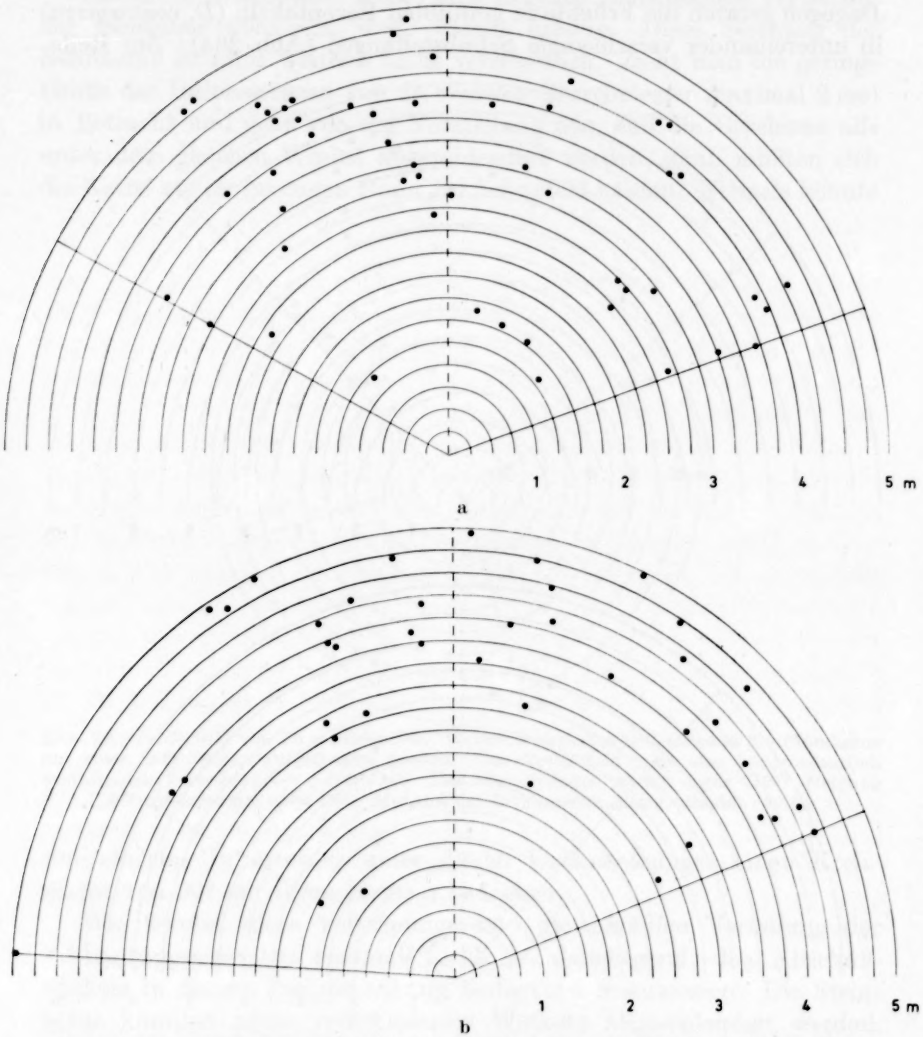


Abb. 24a u. b. Trefferbilder von *D. contrayerva*. Die seitliche Streuung der abgeschleuderten Steinkerne ist auch hier besonders groß. Sektorenwinkel: 133° (a), 155° (b). Neigung der Inflorescenzen: etwa 45°. Abstand der Inflorescenzen vom Erdboden: 35 cm (a), 42 cm (b)

übrigen Früchte gedreht war, daher gelangten die Steinkerne auf die linke Seite des Feldes, wodurch der Fächerwinkel sehr vergrößert wurde.

Die beiden Inflorescenzarme von *D. ceratosanthes* winden sich um ihre Längsachse spiralig auf (Abb. 27). So können die Steinkerne in alle möglichen Richtungen abgeschleudert werden (beachte den großen

Fächerwinkel von 270° in Abb. 22). Bei *D. erecta* sind die Inflorescenzoberflächen oft konvex geformt.

Die Wellungen der Inflorescenzen erklären die weiträumige Verteilung der Steinkerne noch nicht genügend; denn sie sind bei *D. argentea*, *D. ceratosanthes*, *D. erecta* nicht bauplanmäßig bedingt, sondern zufällig. Hauptsächlich kleine Inflorescenzen der genannten Arten zeigen keinerlei Wölbungen.

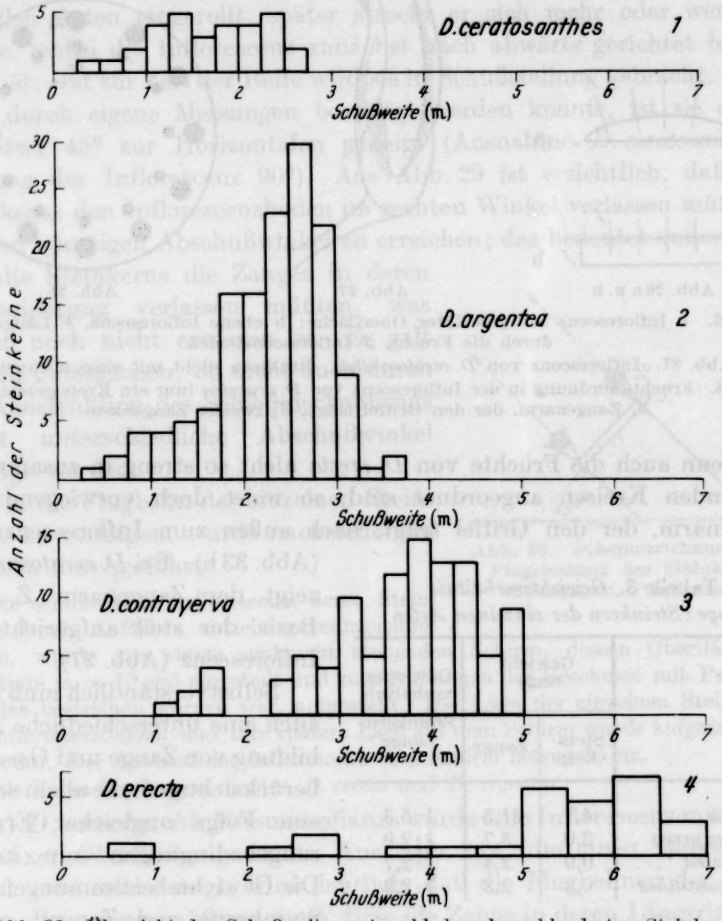


Abb. 25. Übersicht der Schußweiten. Anzahl der abgeschleuderten Steinkerne: *D. ceratosanthes* 32, *D. argentea* 140, *D. contrayerva* 81, *D. erecta* 28

Die Untersuchung der Inflorescenzen und der Stellung der Früchte in den Inflorescenzen ergab noch eine Merkwürdigkeit. Bei *D. argentea* stehen die Früchte in konzentrischen Kreisen, und zwar so, daß der Zangenarm, der den Griffel trägt, nach außen zum Inflorescenzrand

zeigt. Es stehen also die *Früchte der oberen Inflorescenzhälfte spiegelbildlich zu denen der unteren Hälfte* (Abb. 28).

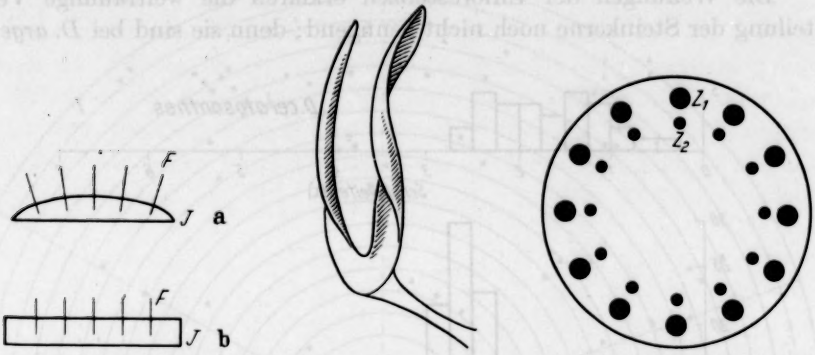


Abb. 26a u. b Abb. 27 Abb. 28

Abb. 26. a Inflorescenz mit gewölbter Oberfläche; b ebene Inflorescenz. *F* Längsachse durch die Frucht, *J* Inflorescenzboden

Abb. 27. Inflorescenz von *D. ceratosanthes*. Brakteen nicht mit eingezeichnet

Abb. 28. Fruchtanordnung in der Inflorescenz von *D. argentea* (nur ein Kreis gezeichnet). Z_1 Zangenarm, der den Griffel trägt, Z_2 zweiter Zangenarm

Wenn auch die Früchte von *D. erecta* nicht so streng in zusammenhängenden Kreisen angeordnet sind, so weist doch vorwiegend der Zangenarm, der den Griffel trägt, nach außen zum Inflorescenzrand (Abb. 33b). Bei *D. ceratosanthes* zeigt der Zangenarm Z_1 zur Basis der steil aufgerichteten Inflorescenz (Abb. 27).

Tabelle 3. *Gewichtsverhältnis Zange : Steinkern der einzelnen Arten*

	Gewicht (mg)		Gewichtsverhältnis
	Steinkern	Zange	Steinkern-Zange
D. erecta . . .	4,1	21,5	1:5,3
D. contrayerva .	2,0	5,7	1:2,9
D. argentea . .	0,9	2,4	1:2,7
D. ceratosanthes	0,8	2,3	1:2,9

Selbstverständlich muß man auch eine unterschiedliche Ausbildung von Zange und Geschoß berücksichtigen, die allein schon eine Folge ungleicher Ernährungsbedingungen sein kann. Die Gewichtsbestimmungen der Steinkerne und Zangen einer Inflorescenz von *D. argentea* ergaben aber nur geringe Abweichungen voneinander, die keine Verschiebung der Schußweiten um Meter bewirken können; zudem ließe sich die seitliche Streuung der Steinkerne ohnehin nicht aus der ungleichen Größe der Früchte erklären. Auch das Gewichtsverhältnis Zange:Steinkern zeigt innerhalb einer Art einen ziemlich konstanten Wert.

Das Gewichtsverhältnis von Steinkern zu Zange bei *D. contrayerva*, *D. argentea* und *D. ceratosanthes* hat etwa den gleichen Wert, obwohl die Steinkerne jeder dieser 3 Arten sich in Größe und Gewicht unter-

scheiden. Sehr abweichend von dem Wert dieser drei Arten ist das Verhältnis von Steinkern zu Zange bei *D. erecta*.

Bisher war man der Meinung, die Geschosse würden unter einem Winkel von 45° abgeschleudert und erschloß dies aus der Stellung der Inflorescenzböden. — Im Jugendstadium ist der Inflorescenzstiel bei allen Arten eingerollt, später streckt er sich mehr oder weniger gerade, wobei die Inflorescenz zunächst nach abwärts gerichtet bleibt (Abb. 5); erst zur Zeit der Reife wird sie in Schußstellung gebracht. Wie auch durch eigene Messungen bestätigt werden konnte, ist sie dann um etwa 45° zur Horizontalen geneigt (Ausnahme *D. ceratosanthes*, Neigung der Inflorescenz 90°). Aus Abb. 29 ist ersichtlich, daß die Steinkerne den Inflorescenzboden im rechten Winkel verlassen müßten, um den günstigen Abschußwinkel zu erreichen; das bedeutet außerdem, daß die Steinkerne die Zangen in deren Längsrichtung verlassen müßten, was jedoch noch nicht erwiesen ist. Es galt also zu untersuchen, ob nicht auch durch die Konstruktion des Schießmechanismus selbst unterschiedliche Abschußwinkel bedingt werden.

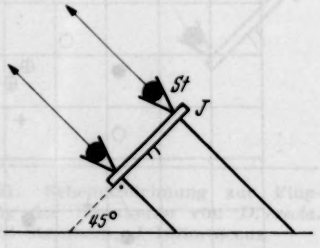


Abb. 29. Schemazeichnung zur Flugrichtung der Steinkerne. *St* Steinkern, *J* Inflorescenz

Um die Flugbahn der einzelnen Steinkerne zu verfolgen, wurde nachstehender Versuch durchgeführt:

Die schußbereite Inflorescenz, deren Steinkerne durch Anfärben einzeln gekennzeichnet waren, wurde vor einem senkrecht stehenden Schirm, dessen Oberfläche in Quadrate (a = 10 cm) eingeteilt und zum Auffangen der Geschosse mit Paraffinvaseline bestrichen worden war, aufgestellt. Die Lage der einzelnen Steinkerne im Inflorescenzboden und ihre spätere Lage auf dem Schirm wurde aufgezeichnet (Abb. 30). Der Abstand der Inflorescenz vom Schirm betrug 50 cm.

Als Versuchspflanzen dienten *D. erecta* und *D. argentea*.

a) *D. erecta.* Als Versuchspflanze wurde eine Inflorescenz mit leicht konvexer Oberfläche gewählt. Aus Abb. 26a, die einen Querschnitt durch eine solche zeigt, wird deutlich, daß die Flugbahnen der Steinkerne divergieren müßten, wenn diese die Zange in deren Längsrichtung verließen. Durch diesen Versuch wurde aber eindeutig eine *Konvergenz der Flugbahnen* festgestellt (Abb. 30, 1a u. b). Wie Abb. 31 verdeutlicht, erlangen somit die Steinkerne der unteren Inflorescenzhälfte einen größeren Abschußwinkel als die Kerne der oberen Inflorescenzhälfte. Vergegenwärtigt man sich die besondere Zangenordnung im Inflorescenzboden, nämlich die spiegelbildliche Stellung, bedenkt man dazu die Ergebnisse des vorhergehenden Versuchs, die Überschneidung der Flugbahnen der Steinkerne gegenüberstehender Zangen, so kommt man zu dem Schluß, daß *die beiden Zangenarme einer Frucht in ihrer Wirkung*

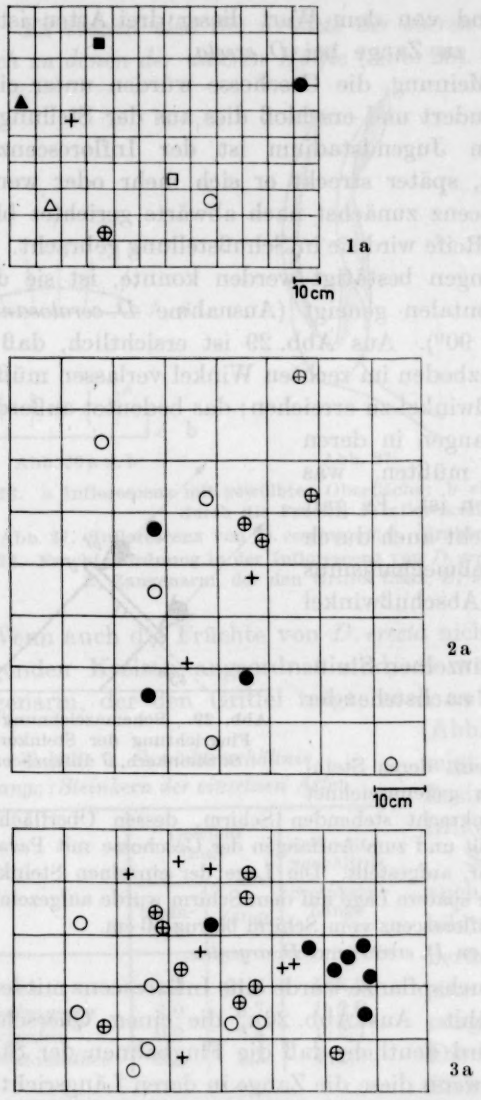


Abb. 30. Untersuchung der Flugrichtung der Steinkerne einer Inflorescenz. a stellt den Auffangschirm mit den abgeschleuderten Steinkernen, b die Inflorescenz mit den markierten Früchten dar. Die vor der Tafel a stehende Inflorescenz b ist der besseren Übersicht wegen von der Unterseite gezeichnet und muß daher durchsichtig gedacht werden. 1 *D. erecta*. ■ Liegt in der Inflorescenz rechts unten, auf dem Schirm links oben. △ Liegt in der Inflorescenz rechts oben, auf dem Schirm links unten. Die Flugbahnen gegenüberliegender Steinkerne überschneiden sich. 2 u. 3 *D. argentea*. In der Inflorescenz wurden die Steinkerne nicht einzeln, sondern sektorenweise markiert. Im Gegensatz zu *D. erecta* bleiben die Steinkerne der linken Inflorescenzhälfte vorwiegend auf der linken Seite des Schirms. Ein einheitliches Prinzip im Verhalten der Flugbahnen ist nicht vorhanden

nicht gleichwertig sind. Die Geschosse verlassen die Zange also nicht in deren Längsrichtung, sondern sie werden über den Zangenarm gekippt,

der nach dem Inflorescenzmittelpunkt orientiert ist; denn nur so kann die Konvergenz der Flugbahnen aller Steinkerne einer Inflorescenz zustande kommen.

Wenn diese Auffassung stimmt, muß sich im Schleuderapparat eine Vorrichtung finden lassen, durch die das Geschoß über den Zangenarm, der dem Griffel gegenübersteht, fortgeschleudert wird. In Kapitel III wurde an *D. argentea* die Einbuchtung der Steinkernwand für eine Gleitschiene der Zangenarme gehalten. Die *Bedeutung dieser Rinne für den Schleudervorgang* wird erst nach dem vorangegangenen Versuch klar. Beobachtet man den Schleudervorgang nach der im Kapitel III beschriebenen Methode an der Frucht von *D. erecta*, so kann man verfolgen, daß der Zangenarm Z_2 den kurzen Weg S_2 (Abb. 32a) zurücklegt, der Zangenarm Z_1 aber den langen Weg S_1, da die Rinne unter diesem Zangenarm in die Basisrinne übergeht. Folglich muß der Steinkern über den Zangenarm Z_2, der zudem kürzer ausgebildet ist als der Zangenarm Z_1, geschwenkt werden. Die ungleiche Länge der Zangenbacken einer Frucht wird aus Abb. 33 ersichtlich.

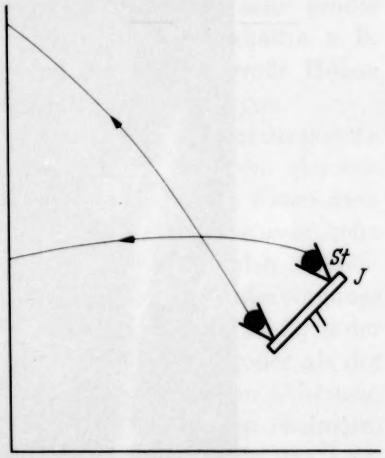


Abb. 31. Schemazeichnung zur Flugrichtung der Steinkerne von *D. erecta*. *St* Steinkern, *J* Inflorescenz

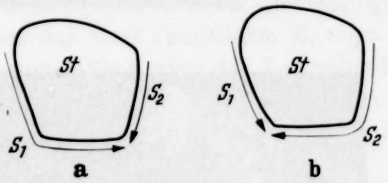
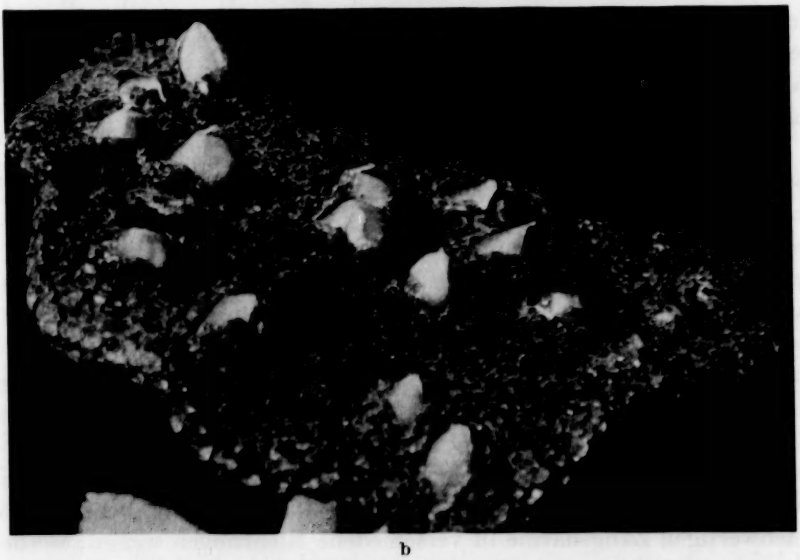


Abb. 32a u. b. S_1 und S_2 Wege, die die Zangenarme Z_1 und Z_2 am Steinkern *St* zurücklegen. (Längsschnitt durch den Steinkern in der Ebene der beiden Zangenarme)

Die besondere Konstruktion der Rinne, Aufgliederung in ungleiche Schienenteile, bestimmt die Flugbahn der Steinkerne; sie garantiert für sich allein noch keine unterschiedlichen Abschußwinkel, sondern nur, daß die Geschosse die Inflorescenzoberfläche unter einem von 90° abweichenden Winkel verlassen. Bei der hier beschriebenen *D. erecta* dürfte diese Abweichung nicht unerheblich sein, da trotz der konvexen Oberfläche der Inflorescenz der Versuchspflanze der Schnittpunkt der Flugbahnen nicht weit von der Pflanze entfernt ist (im Versuch Abstand der Pflanze vom Auffangschirm 50 cm!). Erst wenn eine solche Anordnung der Zangen im Receptaculum hinzukommt, bei der die gleichwertigen Zangenarme in verschiedene Richtungen weisen, werden

a



b

Abb. 33a u. b. *D. erecta*; a reife Frucht, b Inflorescenz mit Früchten

voneinander abweichende Schußrichtungen und damit eine Streuung der Steinkerne im Trefferbild erreicht. Durch die Neigung der Inflorescenz werden dann *Steil- und Flachschüsse* bedingt, so können gleiche Schußweiten unter verschiedenen Abschußwinkeln erreicht werden, was für die Samenverbreitung bei der Überwindung von Hindernissen, die in der Natur durch die Nachbarvegetation gegeben sind, von sehr großer Bedeutung ist. Die Steinkerne der unteren Inflorescenzhälfte z. B. erreichen schon in geringer Entfernung von der Pflanze große Höhen (vgl. Abb. 31) und können so die Nachbarpflanzen überfliegen.

b) ***D. argentea.*** Obwohl die Früchte von *D. argentea* auf die gleiche Weise wie die von *D. erecta* angeordnet sind und auch die gleichen Einbuchtungen der Steinkernwand besitzen, *divergieren die Flugbahnen* vorwiegend (Abb. 30, 2 u. 3). Das bedeutet, daß die Geschosse beim Abschleudern in den meisten Fällen über den griffeltragenden Zangenarm gekippt werden. Die nähere Beobachtung des Schleudervorgangs unter der Lupe zeigt tatsächlich ein Abgleiten des Zangenarms Z_2 in der unter ihm liegenden und der Basisrinne, der Weg s_2 ist größer als der Weg s_1 (Abb. 32b). Dieses Verhalten ist anscheinend davon abhängig, ob zur Zeit des Abschleuderns die Abtrennung des in den Steinkern eintretenden Leitbündels schon erfolgt ist oder nicht; falls das Leitbündel sich noch nicht gelöst hat, beginnt zuerst der Zangenarm Z_2 sich auf der Schiene entlangzubewegen. Dadurch wird der Steinkern so umgelenkt, daß er über den Zangenarm Z_1 fliegen muß; gleichzeitig wird durch die Drehung des Geschosses das zum Zangenarm Z_1 zugehörige Leitbündel vom Steinkern getrennt. Wenn aber das Leitbündel frühzeitig abreißt, nehmen die Steinkerne ihren Weg über den Zangenarm Z_2. Der Kern verläßt die Zange in beiden Fällen nicht in deren Längsrichtung.

Die Abschußwinkel der Geschosse und damit ihre Streuung im Trefferbild ist also abhängig vom Bau der Gleitrinne, der gegenseitigen Orientierung der Früchte, der Neigung und Oberflächenbeschaffenheit der Inflorescenz.

3. Die Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit

Theoretisch läßt sich die Anfangsgeschwindigkeit v_0 aus der Schußweite und dem Abschußwinkel bestimmen:

$$v_0 = \sqrt{\frac{W \cdot g}{\sin 2\alpha}}$$

W = Schußweite, g = Erdbeschleunigung, α = Abschußwinkel.

Wie die im vorigen Abschnitt beschriebenen Versuche ergeben haben, variieren die Abschußwinkel der Steinkerne. Eine genaue Bestimmung der Schußwinkel ist nicht möglich, daher können zur Berechnung der Anfangsgeschwindigkeit nur Mittelwerte gewählt werden.

Da die Inflorescenzen von *D. argentea*, *D. contrayerva*, *D. erecta* in der Schlußstellung eine Neigung von 45° haben, die Steinkerne die Inflorescenz unter einem von 90° etwas abweichenden Winkel verlassen, müssen die Abschußwinkel um 45° variieren. Wenn für den Abschußwinkel ein Mittelwert von 45° angenommen wird, ergibt sich

$$v_0 = \sqrt{W \cdot g}.$$

Da den Abschußwinkeln entsprechend auch die Schußweiten der Steinkerne variieren, wurde für die Schußweite W der Maximalwert der Häufungskurve (Abb. 25) als Mittelwert angenommen.

Im Experiment wurde die Anfangsgeschwindigkeit der abgeschleuderten Steinkerne auf eine in der Ballistik übliche Weise zur Bestimmung von Geschoßgeschwindigkeiten, nämlich mittels zweier um eine gemeinsame Achse rotierender Scheiben, ermittelt (siehe auch PRINGSHEIM und CZURDA 1927). Die durch die Schußöffnungen der ersten Scheibe fliegenden Steinkerne werden von der zweiten Scheibe aufgefangen. Aus der Winkelabweichung der Geschosse auf der zweiten Scheibe, der Umdrehungszahl der Scheiben und dem Scheibenabstand erhält man die Daten zur Berechnung der Fluggeschwindigkeit.

Tabelle 4. *Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit v_0 aus Abschußwinkel und Schußweite*

	W_m (m)	v_0 (m/sec)
D. argentea . .	2,75	5,2
D. contrayerva .	4,0	6,25
D. erecta . . .	6,5	8,0

Die Scheiben drehen sich in x Sekunden um 360°. Somit wird der Winkel w (= Winkelabweichung der Steinkerne auf der zweiten Scheibe) in $w \cdot x/360$ sec durchlaufen. Während dieser Zeit legt der Steinkern den Weg s (= Scheibenabstand) zurück. Folglich ist der in 1 sec zurückgelegte Weg

$$v_0 = \frac{360 \cdot s}{w \cdot x} \text{ (m/sec)}.$$

Versuchsaufbau und -durchführung. Die Durchschußscheibe erhielt vier Sektorenausschnitte zu je 10°, die Auffangscheibe wurde zur Messung der Winkelabweichung mit Polarkoordinatenpapier beklebt, welches seinerseits zum Auffangen der Steinkerne mit Paraffinvaseline bestrichen wurde. Die Achse, die die beiden Scheiben trägt, wurde elektrisch angetrieben und ihre Umdrehungszahl stroboskopisch gemessen (Abb. 34).

Die Hauptschwierigkeit des Versuchs bestand darin, die Steinkerne durch die Durchschußöffnungen der vorderen Scheibe zu schicken. Da nach der Wahrscheinlichkeit nur der neunte Teil der aufprallenden Geschosse durch die Öffnungen der vorderen Scheibe hindurchgelangt, muß für den einzelnen Versuch eine große Zahl von Steinkernen verwendet werden. Das Experimentieren mit der Pflanze selber war aus nachfolgenden Gründen nicht möglich: 1. Die Flugbahnen der Steinkerne einer Inflorescenz sind nicht gleichgerichtet, somit trifft nur ein Bruchteil der Geschosse senkrecht auf die Durchschußscheibe. Die Auftreffwinkel lassen sich nicht bestimmen. 2. Bei den Gewächshauspflanzen dauert es oftmals zwei bis drei Tage, bis eine Inflorescenz ihre Steinkerne entlassen hat. Während dieser Zeit müßte der Versuch ununterbrochen beobachtet werden.

Daher wurde der Schleudervorgang im Modellversuch nachgeahmt. Abb. 35 zeigt die verwendete Apparatur: ein Hebel *H* wird durch eine Zugfeder *F* gespannt. Durch plötzliches Entspannen der Feder wird der Hebel gegen die Zunge *Z* geschlagen und so ein Impuls auf den in der um 45° geneigten Schußrinne *S* liegenden Steinkern St übertragen. Da die Federkraft regulierbar ist, können verschiedene Schußweiten eingestellt werden. Die rotierende Achse mit den beiden Scheiben erhielt ebenfalls eine Neigung von 45°, so daß die Steinkerne im rechten Winkel auf die Scheiben abgeschleudert wurden (Abb. 34).

Abb. 34. Versuchsaufbau zur Bestimmung der Fluggeschwindigkeit der Steinkerne. sch_1 Durchlaßscheibe, sch_2 Auffangscheibe, *K* Kanone

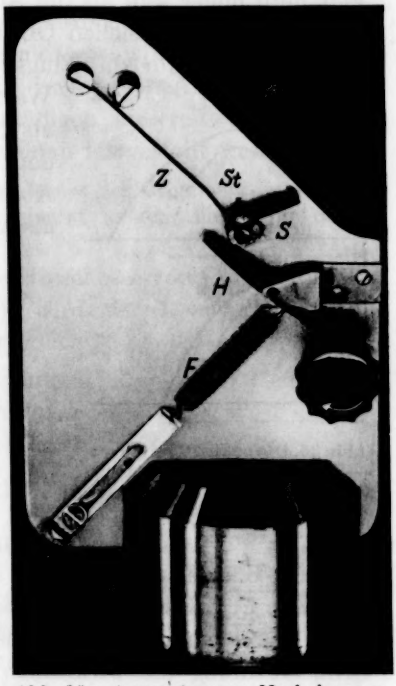


Abb. 35. Apparatur zur Nachahmung des Schleudervorgangs („Kanone"). Näheres im Text

Als Versuchsobjekt diente nur *D. contrayerva*, da von den anderen Arten nicht genügend Material vorhanden war. Die notwendige Zahl von Steinkernen wurde schon vorher gesammelt und im natürlichen Feuchtegrad gehalten.

Nachdem in einem Vorversuch die Kanone auf die mittlere Schußweite „eingeschossen" worden war, konnte im Hauptversuch die Anfangsgeschwindigkeit auf die beschriebene Weise bestimmt werden. Der Scheibenabstand betrug 10 cm, der Abstand zwischen Abschußbasis der Kanone und der Durchschußscheibe betrug 5 cm; genaugenommen wurde also nicht die Anfangsgeschwindigkeit, sondern die Geschwindigkeit im Abstand von 5—15 cm von der Pflanze ermittelt.

Die Versuchsreihen ergaben als Mittelwert für die *Anfangsgeschwindigkeit der abgeschleuderten Steinkerne von D. contrayerva*: $V_0 = 10$ m/sec.

Ein Vergleich zeigt, daß der im Experiment gewonnene Wert der Anfangsgeschwindigkeit der abgeschleuderten Steinkerne von *D. contrayerva* höher liegt als der theoretische Wert.

Erklärung: Die theoretisch bestimmte Fluggeschwindigkeit ergibt sich aus der idealen Wurfparabel; die Einwirkung der Luftreibung, durch die die Bahn des Geschosses so verändert wird, daß sich die Schußweite verringert, bleibt unberücksichtigt. Dagegen liegt dem empirisch bestimmten Wert für die Fluggeschwindigkeit die ballistische Kurve zugrunde (im Vorversuch Einstellen der Kanonenfeder auf die Schußweite). Die zu dieser ballistischen Kurve gehörende Anfangsgeschwindigkeit muß höher sein als die Anfangsgeschwindigkeit der idealen Wurfparabel mit der gleichen Öffnung (Abb. 36). Der im Experiment gewonnene Wert für die Fluggeschwindigkeit muß daher der genauere Wert sein; dieser darf allerdings auch nur als Näherungswert angesehen werden, da in den Modellversuch des Schleudervorgangs Abschußwinkel und zugehörige Schußweite als angenommene Werte eingehen.

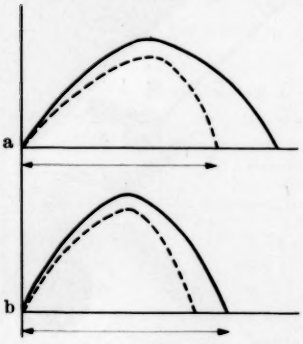


Abb. 36. Die ballistische Kurve (– – –) in a hat die gleiche Öffnung wie die ideale Wurfparabel (——) in b

4. Die im Schleudermechanismus auftretenden Drucke

Die Frage nach den im Schleudermechanismus auftretenden Drucken ist von großem Interesse. Leider bietet die Bauart der Verbreitungseinrichtung der *Dorstenia*-Früchte nur wenig Möglichkeiten, durch physikalische Untersuchungsmethoden die von der Pflanze erzeugten Drucke direkt zu messen, wie es z. B. in eleganter Weise bei dem Turgescenz-Schleudermechanismus von *Ecballium* möglich war (OVERBECK 1930). Jedoch läßt sich schon durch einige theoretische Überlegungen abschätzen, in welcher Größenordnung die wirksamen Drucke liegen dürften.

Unter dem Druck P versteht man die auf die Flächeneinheit entfallende Kraft,

$$P = K/F. \tag{1}$$

Die unbekannte Größe K läßt sich aus dem Energiebetrag, der für den Abschuß aufgewendet wird, ermitteln; denn

$$E = K \cdot 1, \tag{2}$$

1 ist der Weg, auf dem die Kraft wirkt, in diesem Fall der Weg, den die Zange am Steinkern zurücklegt. Nach Gleichung 2 ist

$$K = E/1. \tag{3}$$

Da die kinetische Energie

$$E = \frac{m \cdot v^2}{2} \tag{4}$$

ist, ergibt sich

$$K = \frac{m \cdot v^2}{2 \cdot 1}. \tag{5}$$

Aus Gleichung 1 und 5 folgt

$$P = \frac{m \cdot v^2}{2 \cdot l \cdot F} \cdot \tag{6}$$

Der Druck P läßt sich somit aus der Masse m und der Anfangsgeschwindigkeit v des abgeschleuderten Steinkerns, aus dem Weg l, den die Zangenarme am Steinkern zurücklegen, und der Fläche F, auf die sich die Kraft verteilt, also aus der Größe der Ansatzstelle des Schwellgewebes am Steinkern, errechnen. Von diesen Größen läßt sich nur die Masse m des abgeschleuderten Steinkerns mit der erforderlichen Genauigkeit bestimmen. Daß die gemessene Geschwindigkeit v nur als Näherungswert angesehen werden darf, ist im vorigen Abschnitt schon dargelegt worden. Wegen der unregelmäßigen äußeren Gestalt des Steinkerns können auch l und F nur ungenau festgestellt werden.

Um l und F zu messen, wurde die Ansatzstelle des Schwellgewebes am Steinkern unter dem Mikroskop mit dem Zeichenapparat aufgezeichnet und dann ausgemessen.

Da nur die Anfangsgeschwindigkeit der Geschosse von *D. contrayerva* genauer bestimmt wurde (Experiment), wird der Druck P nur *für D. contrayerva berechnet.*

$$m = 2 \cdot 10^{-3}\,\mathrm{g};\ v = 10^3\,\mathrm{cm/sec};\ l = 10^{-1}\,\mathrm{cm};\ F = 2 \cdot 10^{-1}\,\mathrm{cm^2};$$

$$P = \frac{2 \cdot 10^{-3} \cdot 10^6}{2 \cdot 10^{-1} \cdot 2 \cdot 10^{-1}} \left[\frac{\mathrm{g \cdot cm^2}}{\mathrm{cm \cdot cm^2 \cdot sec^2}} = \frac{\mathrm{dyn}}{\mathrm{cm^2}}\right]$$

$$P = 5 \cdot 10^4 \frac{\mathrm{dyn}}{\mathrm{cm^2}};\quad \text{da}\quad 1\,\mathrm{g} = 981\,\mathrm{dyn},\ \text{ist}\quad P = \frac{5 \cdot 10^4}{981}\,\frac{\mathrm{g}}{\mathrm{cm^2}}$$

$$P = 51\,\frac{\mathrm{g}}{\mathrm{cm^2}};\qquad P \approx 0{,}05\ \mathrm{Atm}.$$

Die empirische Bestimmung des tatsächlich wirksamen Drucks, der von den Zangenarmen auf den Steinkern übertragen wird, bereitet schon wegen der Kleinheit des Schleuderapparates Schwierigkeiten. Außerdem läßt die Konstruktion des Mechanismus nicht zu, irgendwelche Meßgeräte so einzuführen, daß die auftretenden Drucke noch vor Auslösung des Schleudervorgangs gemessen werden können. Die einzige Möglichkeit, experimentell eine Vorstellung von der Größe der auftretenden Drucke zu gewinnen, bestand darin, die nach dem Abschuß geschlossene Zange wieder aufzubiegen und den dazu aufgewendeten Druck zu messen. Dieser Druck darf jedoch nicht dem Druck, der tatsächlich auf den Steinkern ausgeübt wird, gleichgesetzt werden, da der Schleudervorgang nach Overbeck (1924) auf einer Gestaltsveränderung der Schwellzellen beruht, wir aber nicht annehmen können, daß wir es mit einem vollkommen elastischen System, also einem reversiblen Vorgang, zu tun haben. Doch soll dieser Versuch nur eine Vorstellung von den zur Geltung kommenden Drucken vermitteln.

Der Grundgedanke der Versuchsdurchführung war, zwischen die Arme einer Zange, die ihren Steinkern gerade abgeschossen hat, einen

plastischen Schlauch einzufädeln, durch Aufblasen des Schlauches die Zange wieder zu öffnen und den dazu benötigten Druck zu messen.

Versuchsaufbau und -durchführung. Der plastische Schlauch wurde aus Cellophan hergestellt, indem dieses um eine Glasröhre, deren Durchmesser etwa der Geschoßbreite entsprach, gelegt und zusammengeklebt wurde. Um das Einführen des Schlauchs in die Zange zu erleichtern, wurde die Klebnaht am Vorderende durch eine dünne Papiereinlage versteift (Abb. 37).

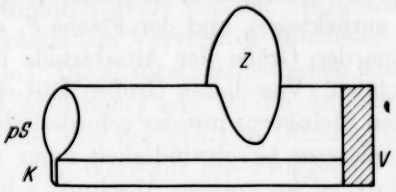


Abb. 37. Plastischer Schlauch (pS), V versteiftes Vorderende, K Klebnaht, Z Zange

Ein gleichmäßiger Luftstrom zum Aufblasen des Schlauchs wurde auf folgende Weise hergestellt: In ein geschlossenes Gefäß wurde Wasser eingelassen und die dadurch verdrängte Luft dem Schlauch zugeführt. Mittels des Wasserhahnes konnte so der Luftstrom reguliert werden. Dieses Gefäß, der plastische Schlauch und ein offenes Quecksilber-Manometer wurden durch ein T-Stück miteinander verbunden (Abb. 38).

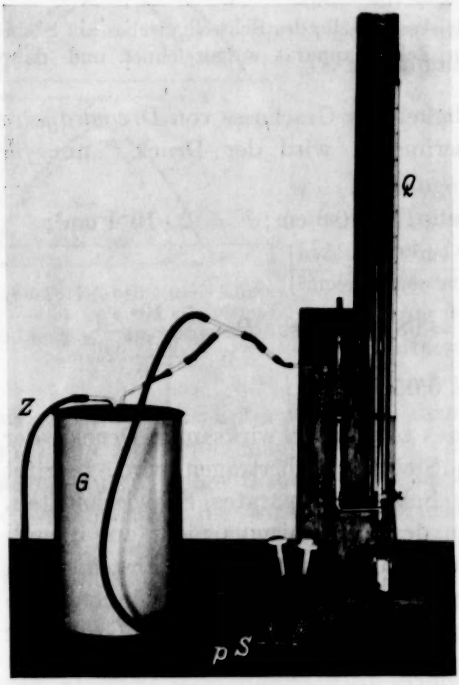


Abb. 38. Versuchsaufbau zur Bestimmung der im Schleuderapparat auftretenden Drucke. Q Quecksilbermanometer; L binoculare Lupe; pS plastischer Schlauch; G Gefäß, aus dem die Luft verdrängt wird; Z Zuleitung zum Wasserhahn

Zunächst wurden für den Versuch Zangen verwendet, die ihren Steinkern schon abgeschossen hatten; das Einführen des Cellophanschlauchs war hier jedoch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden, da bei dem Versuch, den Schlauch in die fest zusammengeklappte Zange einzuführen, diese meist auseinanderbrach. Als sehr praktisch erwies es sich daher, solche Zangen zu wählen, deren Steinkerne eben vor dem Abschuß standen, und durch Einschieben des harten Vorderendes des Cellophanschlauches den Steinkern zu entfernen, beim Zuklappen der Zangenarme wurde dann der Schlauch mit eingeklemmt und konnte durchgezogen werden. In das Gefäß G wurde Wasser eingelassen; während sich der Schlauch pS mit der verdrängten Luft füllte, wurde das Öffnen der Zange unter der binocularen Lupe beobachtet; dabei gleitet die Zange leicht ab und muß deshalb am Schlauch festgehalten werden. Da der Schlauchdurchmesser mit der Steinkernbreite übereinstimmte, wurde der Luftdruck so lange gesteigert, bis die Zange so weit geöffnet war, daß der Schlauch nicht mehr von der Zange eingedellt wurde. In den meisten Fällen brachen die Zangen schon vorher auseinander.

Als Versuchspflanzen dienten *D. erecta* und *D. contrayerva*. Die Früchte von *D. ceratosanthes* und *D. argentea* konnten für den Versuch wegen der geringen Größe ihres Mechanismus nicht verwendet werden.

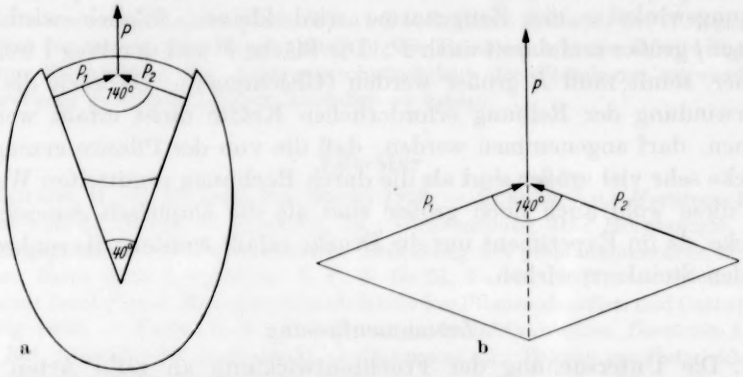


Abb. 39. a Schemazeichnung zur Bestimmung der auftretenden Drucke. 40°: Öffnungswinkel der Zange; P_1 und P_2 Drucke, die von der Zange senkrecht auf den Steinkern ausgeübt werden; P Druck, der in Richtung der Flugbahn wirksam ist; b Kräfteparallelogramm zur Bestimmung des Faktors f (Näheres im Text)

Die empirisch gewonnenen Werte liegen höher (10mal so hoch!) als die theoretisch bestimmten. Diese Differenz ist zu erwarten; denn im Experiment wurden die Drucke P_1 und P_2 (Abb. 39a) gemessen, die von den Zangenarmen auf den Steinkern ausgeübt werden, während in der Theorie der Druck ermittelt wurde, der in Richtung der Flugbahn wirksam ist und Resultierende aus P_1 und P_2 ist. P_1 und P_2 werden je als Resultierende aller von dem einzelnen Zangenarm auf den Steinkern ausgeübten Drucke angesehen. Wenn wir den theoretischen Wert P mit dem empirischen Wert P_1 vergleichen sollen, müssen wir erst den Faktor f bestimmen, durch dessen Multiplikation mit P wir P_1 erhalten.

Tabelle 5. *Gemessene Drucke (Mittelwerte)*

	mm Hg	Atm
D. erecta . . .	500	0,66
D. contrayerva .	350	0,46

Das ist leicht auf geometrischem Wege möglich: der Öffnungswinkel w der Zange wurde zu 40° gemessen, somit bilden P_1 und P_2 als senkrecht auf den Steinkern wirkende Druckkräfte einen Winkel von 140° miteinander. Obgleich die Zangenarme in ihrer Wirkung als ungleichwertig angesehen werden müssen, wird $P_1 = P_2$ gesetzt, da diese Unterschiede nicht zu erfassen sind und in diesem Zusammenhang als gering angesehen werden. Aus diesen bekannten Daten läßt sich das Kräfteparallelogramm konstruieren (Abb. 39b); das Verhältnis der Länge des Vektors P_1 zur Länge des Vektors P ergibt den gesuchten Faktor f.

$$f = 1{,}5;\ P \cdot f = 0{,}05 \cdot 1{,}5;\ P \cdot f = 0{,}075.$$

Der theoretisch bestimmte Druck P_1 ($= P \cdot f$) beträgt 0,075 Atm und weicht noch immer erheblich von dem experimentell bestimmten Druck ab. Während in die experimentelle Bestimmung des Drucks

die Fläche F (Größe der Ansatzstelle des Schwellgewebes am Steinkern) nicht mit eingeht, ist sie jedoch für die Berechnung des Drucks von Bedeutung. Die einzelnen Daten, aus denen der Druck theoretisch ermittelt wurde, ändern sich während des Schleudervorgangs: der Öffnungswinkel w der Zangenarme wird kleiner, folglich wird der Faktor f größer und damit auch P. Die Fläche F und der Weg l werden kleiner, somit muß P größer werden (Gleichung 6). Da auch die zur Überwindung der Reibung erforderlichen Kräfte nicht erfaßt werden können, darf angenommen werden, daß die von der Pflanze erzeugten Drucke sehr viel größer sind als die durch Rechnung ermittelten Werte, daß diese wohl auch noch größer sind als die empirisch gemessenen Drucke, da im Experiment nur die Drucke erfaßt wurden, die senkrecht auf den Steinkern wirken.

Zusammenfassung

1. Die Untersuchung der Fruchtentwicklung an zehn Arten der Gattung *Dorstenia* ergab, daß alle Arten den von OVERBECK (1924) beschriebenen Schleudermechanismus besitzen.

2. Als Besonderheit wurden am Steinkern Gleitrinnen für die Zangenarme gefunden.

3. Die von MODILEWSKY (1908) nur an *D. tuneraefolia* beobachteten eigenartigen Integumentverhältnisse konnten bei der Mehrzahl der untersuchten Arten festgestellt werden. Der von MODILEWSKY beschriebene Auswuchs des Funiculus ist identisch mit dem Wulst, den ECKARDT (1937) als Scheidewandrest des pseudomonomeren Gynaeceums der Dorstenien deutet.

4. Der Versuch, die Ergebnisse der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen der Früchte für die Systematik der Dorstenien zu verwerten, ergab, daß eine Einteilung auf Grund der beiden Bautypen der Samenanlage sich nicht mit den vorhandenen Systemen in Einklang bringen läßt.

5. Die im Laboratoriumsversuch bestimmten Schußweiten der abgeschleuderten Steinkerne betragen maximal: *D. erecta* 7,0 m; *D. contrayerva* 5,0 m; *D. argentea* 3,75 m; *D. ceratosanthes* 2,75 m.

6. Die weiträumige und gleichmäßige Verteilung der Steinkerne im Trefferbild wird durch die besondere Konstruktion der Gleitrinne am Steinkern, die gegenseitige Orientierung der Früchte in der Inflorescenz, die Neigung und Oberflächenbeschaffenheit der Inflorescenzen bedingt.

7. Die Anfangsgeschwindigkeit der abgeschleuderten Steinkerne von *D. contrayerva* beträgt 10 m/sec.

8. Der Druck, den die Zangenarme senkrecht auf den Steinkern ausüben, ergibt sich zu: *D. erecta* 0,66 Atm; *D. contrayerva* 0,46 Atm.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. F. Overbeck, danke ich herzlich für die rege Anteilnahme an der Durchführung und dem Fortgang dieser Arbeit, für viele Hinweise und für die stete Hilfsbereitschaft. Herrn Dozenten Dr. H. Straka danke ich für die Hilfe bei der Anfertigung der Photographien.

Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich auch Herrn Professor Dr. W. Kroebel (Institut für angewandte Physik, Kiel) für die Beratung und die Bereitwilligkeit, die zur Bestimmung der Anfangsgeschwindigkeit der Steinkerne verwendeten Apparaturen in seinem Institut herstellen zu lassen.

Literatur

Baillon, H.: C. R. Acad. Sci. (Paris) **1870**. — Bureau, Ed.: *Moraceae*. Prod. de Candolle **17** (1873). — Eckardt, Th.: Untersuchung über Morphologie, Entwicklungsgeschichte und systematische Bedeutung des pseudomonomeren Gynoeceums. Nova Acta Leopoldina, N. F. **5**, Nr 26, 1—100 (1937). — Engler, A.: *Moraceae* (excl. *Ficus*). Monographien afrikanischer Pflanzenfamilien und Gattungen. Leipzig 1898. — Fries, R. E.: Zur Kenntnis der afrikanischen *Dorstenia*-Arten. Ark. Bot. (Stockh.) **13**, 1—8 (1913). — Golenkin, M.: Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Inflorescenzen der Urticaceen und Moraceen. Flora (Jena) **78**, 97—132 (1894). — Krause, O.: Cytologische Studien bei den Urticales unter besonderer Berücksichtigung der Gattung Dorstenia. Planta (Berl.) **13**, 29—84 (1931). — Modilewsky, J.: Zur Samenentwicklung einiger Urticifloren. Flora (Jena) **98**, 428—470 (1908). — Müller, Fr.: Einige Nachträge zu Hildebrandts Buch: Die Verbreitungsmittel der Pflanzen. Kosmos **7**, 275 (1883). — Overbeck, F.: Studien an den Turgeszenzschleudermechanismen von *Dorstenia contrayerva* L. und *Impatiens parviflora* D. C. Jb. Bot. **63**, 467—499 (1924). — Mit welchen Druckkräften arbeitet die Spritzgurke? Planta (Berl.) **10**, 138—169 (1930). — Pringsheim, E. G., u. V. Czurda: Phototropische und ballistische Probleme bei Pilobolus. Jb. Bot. **66**, 863—901 (1927).

Dr. Gertrud Schleuss,
Botanisches Institut der Universität Kiel,
Kiel, Düsternbrooker Weg 17

Planta, Bd. 52, S. 320—333 (1958)

Aus dem Department of Bacteriology, University of Western Ontario, London, Canada

ÜBER DIE STRUKTUR UND TEILUNG DER KERNE VON GEOTRICHUM CANDIDUM UND GEOTRICHUM MAGNUSII

Von

ROSWITHA SCHMID

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Juli 1958)

Bei der Frage nach der Struktur und Teilung vegetativer Pilzkerne erhebt sich eine Problematik, die Anlaß zu mehrfachen Kontroversen und Anregung zu näherer Untersuchung und Erörterung gab. Schon in einer der ältesten Arbeiten über die Zellkerne der Thallophyten schreibt SCHMITZ (1879): „Am meisten Schwierigkeiten aber bieten mir die Pilze, ... namentlich in vegetativen Zellen ...", wo zunächst die Existenz von Kernen überhaupt angezweifelt wurde. Doch gelang es SCHMITZ bei einigen Pilzen, u. a. *Oidium lactis* (alter Name von *Geotrichum candidum*) mit Hämatoxylinfärbung die Kerne darzustellen und die Vielkernigkeit der vegetativen Hyphen dieses Pilzes nachzuweisen. Ein entsprechendes Bild gab die Feulgenfärbung, die LUTERAAN u. GUYOTJEANNIN (1954) bei *Geotrichum candidum* durchführten. Es werden jedoch keine Angaben über die Struktur oder den Teilungsmechanismus der dargestellten Kerne gemacht. Ganz allgemein weist SCHMITZ darauf hin, daß die Kerne der Thallophyten mannigfache Gestalt zeigen, die Teilung durch Einschnürung erfolgen kann und Ähnlichkeit mit dem Verhalten ciliater Infusorien aufweist. Die ungewöhnlichen Erscheinungsformen und Teilungsmechanismen vegetativer Pilzkerne werden bei ROBINOW (1957) in seiner Arbeit über *Mucor* im Zusammenhang mit den Ergebnissen anderer Autoren eingehend diskutiert, ebenso in den Arbeiten von BAKERSPIGEL (1957) und PONTEFRACT (1956).

Als weiterer Beitrag zur Erkenntnis dieser Fragen erschien uns *Geotrichum candidum* und *G. magnusii* besonders vielversprechend, durch die auffällige Größe ihrer Kerne. Technisch gesehen hat *Geotrichum* die angenehme Eigenschaft, daß es sich sehr lange keimfähig erhält und selbst nach einem Jahr im Eisschrank innerhalb weniger Stunden zu Hyphen auswächst.

Die folgenden Untersuchungen der Kerne von *Geotrichum* sollen eine weitere Ergänzung unserer Kenntnisse der vegetativen Pilzkernstruktur sein.

Material und Methoden

1. Kulturen. *Geotrichum magnusii* erhielten wir von Dr. J. W. CARMICHAEL, Universität von Alberta, Edmonton/Kanada, als Thesis-Strain M-3, den er aus der Sammlung des Instituts für Gärungsgewerbe, Berlin, von S. WINDISCH 1953 als Imperfektenzustand von *Endomyces magnusii* (LUDWIG 1886) erhalten hatte. *Geotrichum candidum* wurde in unserem Laboratorium von menschlichem Speichel isoliert.

Beide Arten wuchsen gut bei Zimmertemperatur, keimten jedoch rascher bei 30° C. Vorratskulturen wurden bei 4° C aufbewahrt. Als Nährboden zeigte sich Hefeextrakt-Glucose-Agar (Hefeextrakt Difco 0,5%, Glucose 2%, Agar 1,5%) gut geeignet, ebenso Kartoffel-Dextrose-Agar. Der für *Geotrichum* typische Zerfall des Mycels in Gliedersporen vollzog sich auf ersterem fast unmittelbar nach der Keimung, während auf Kartoffelagar das Auswachsen der Keimschläuche länger andauerte.

2. Fixierung. Die folgenden Fixierungsmittel wurden verwendet:

a) Essigsäure-Alkohol. Die Präparate wurden in einem Gemisch von 1 Teil Eisessig und 3 Teilen 95%igem Alkohol 10—15 min lang fixiert und anschließend in 70%igen Alkohol gebracht.

b) Osmiumtetroxyd. Es wurde eine 2%ige wäßrige Lösung bereitet und in Form von Dämpfen zur Wirkung gebracht (Dauer 4—5 min), dann in 70%igen Alkohol übertragen.

c) Sanfelices Fixativ. In dieser Mischung (Chromsäure-Formol-Eisessig) wurde bei 4° C ungefähr 20—24 Std fixiert, anschließend gut mit Leitungswasser ausgewaschen.

d) Halbkonzentriertes Schaudinn-Gemisch. 2 Teile gesättigte, wäßrige Quecksilberchloridlösung wurden mit 1 Teil 95%igem Alkohol gemischt, zur Hälfte verdünnt und 2%iger Eisessig hinzugefügt. Fixierungsdauer etwa 15 min.

e) Regaudsche Lösung. 3%iges wäßriges Kaliumbichromat wurde mit Formol gemischt, darin wurden die Objekte 2 Std lang fixiert, nachher 24 Std in 3%iges Kaliumbichromat gebracht und schließlich gut mit Leitungswasser nachgespült.

3. Färbung. *a) Giemsa.* 2 Tropfen Giemsalösung (Gurrs Giemsa R 66) wurden mit 1 cm^3 Pufferlösung (p_H 6,3—6,8) gemischt. Die seit PIEKARSKI (1937) und NEUMANN (1941) von ROBINOW (1942, 1956) vielfach zur Färbung von Bakterienkernen angewendete Lösung hat sich neuerdings auch zur Darstellung der Kerne von blaugrünen Algen (CASSEL u. HUTCHINSON 1954) und Pilzen bewährt (PONTEFRACT 1956, BAKERSPIGEL 1957, ROBINOW 1957).

b) Feulgen. Zur Feulgenreaktion wurde das Schiffsche Reagens in der üblichen Weise, mit Diamantfuchsin, bereitet. Eine Abänderung der Technik, zum Nachweis basischer Proteine (Histon), unter Ersatz von Salzsäure durch Trichloressigsäure, nach der Methode von ALFERT u. GESCHWIND (1953) versuchten wir zum eventuellen Nachweis von Histon.

c) Eisenalaun-Hämatoxylin. Nach einer Beizung in 2%igem Eisenalaun wurde in halboxydiertem Hämatoxylin (nach BAKER u. JORDAN 1953) gefärbt, mit 2%igem Eisenalaun oder verdünnter Pikrinsäure differenziert.

Zur direkten Färbung wurden Toluidinblau, Carminessigsäure, Methylenblau und Fast Green angewendet.

4. Präparationsmethoden. *a) Abdruckmethode.* Die Sporen wurden auf sterilem Agarnährboden in einer Petrischale ausgebreitet und bei 30° C zur Keimung gebracht. Nach 6 Std hatten die meisten einen Keimschlauch von ungefähr doppelter Sporenlänge entwickelt. Von dieser Kultur wurden kleine Agarstücke ausgeschnitten und rasch, um eine Austrocknung zu vermeiden, auf ein Deckglas, das leicht mit verdünntem Eiweiß beschmiert war, sanft aufgedrückt. Nach

raschem Abschleudern des Agarblöckchens wurde das Deckglas ins Fixativ gebracht und danach in 70%igem Alkohol aufgehoben. Diese Methode hat sich besonders für die Fixierung mit Eisessigsäure-Alkohol bewährt. Für die Osmiumfixierung wurde die Methode leicht variiert, indem man die Osmiumdämpfe in situ einwirken ließ und nachfolgend einen Deckglasabdruck herstellte. Vor der Giemsafärbung und der Feulgenreaktion wurde das Präparat 9—11 min in einer 1 n Salzsäure bei 60° C hydrolysiert, mit destilliertem Wasser ausgewaschen und dann gefärbt; in Giemsalösung verblieben die Präparate nach Essigsäure-Alkohol-Fixierung 4—5 Std, nach Osmiumfixierung über Nacht in Schiffs Reagens 3—4 Std.

b) Zellophan-Kulturen. Verschiedene Autoren (FLEMING u. SMITH 1944, CARMICHAEL 1956, BAKERSPIGEL 1957 und ROBINOW 1957) empfahlen diese Technik zur Präparation von keimenden Sporen und jungen Hyphen. Sterile Zellophanstreifen wurden auf einer Hefeagar-Petrischale ausgebreitet und mit Sporen beimpft. Zu gegebener Zeit wurde in situ fixiert, sodann wurden die Zellophanstreifen in 70%igen Alkohol übertragen. Der Nachteil dieser Methode besteht in der Gefahr des Abschwimmens im Fixativ, besonders in Sanfelice und Flemming-Benda.

c) Agarfilmpräparate. α) Für Hämatoxylinfärbung. Deckgläser wurden mit einem dünnen Agarfilm bedeckt und mit Sporen beimpft. Diese Kulturen eigneten sich besonders für die Heidenhainsche Färbung, nach Osmium- und Sanfelice-Fixierung. Für die Giemsa- und Feulgenfärbung sind sie ungeeignet, da sich der Agarfilm bei der Hydrolyse ablöst.

β) Für Phasenkontrastuntersuchungen. Ein dünner Objektträger wurde mit einem feinen Agarfilm überzogen. Davon wurde mit Hilfe eines flachen Messers soviel entfernt, daß nur eine Agarfläche von ungefähr $1 \times 1{,}5$ cm im Zentrum übrigblieb, die mit einem Glasfaden mit Sporen beimpft wurde. Nach ungefähr einer Stunde in der feuchten Kammer bei 30° C wurde ein Deckglas auf die Kultur gelegt und mit Wachs verschlossen, unter Freilassung einer Ecke zum Lufteintritt bzw. zur Feuchthaltung unter dem Mikroskop mit Hilfe eines feuchten Filterpapiers.

Eine ausführliche Beschreibung dieser Methoden findet sich in den Arbeiten von ROBINOW (1957) und BAKERSPIGEL (1957).

5. Mikroskopie und Photographie. Die photographischen Aufnahmen wurden mit Hilfe eines Zeiss-Mikroskopes bei Koehlerbeleuchtung gemacht. Dabei wurden ein Interferenzfilter (Transmissionsmaximum 5460 Å) und verschiedene der Färbung der Präparate angepaßte Kompensationsfilter (z. B. Gelbfilter bei Feulgen) verwendet.

Zur Phasenkontrastmikroskopie kam die Phasenkontrasteinrichtung von Bausch und Lomb zur Verwendung, für die Photographien ein Kodak Royal Pan Cut Film. Die lichtmikoskopischen Aufnahmen wurden auf einem Kodak Panatomic Cut Film aufgenommen, im allgemeinen bei 1800facher Vergrößerung.

Mit Ausnahme der Hämatoxylinpräparate (die entwässert in Kunstharz DPX eingebettet photographiert wurden) stellen alle anderen Aufnahmen gefärbter Präparate feuchtes Material dar (in Carminessigsäure, Wasser oder Giemsapuffer).

Beobachtungen und Ergebnisse

1. Lebendes Material. Eine starke Vacuolisierung und Granulahäufung im Plasma beeinträchtigte die Kernbeobachtungen im Phasenkontrastmikroskop erheblich. Bei *Geotrichum magnusii* (Abb. 1a—s) erscheinen die Kerne in einer körnigen und vacuolisierten Plasmamasse. Sie setzen sich aus einem optisch dichten, mehr oder weniger runden

Nucleolus und einem weniger dichten Hof zusammen (nach GIRBARDT 1955 „graue Struktur" und „Außenkern"). Eine Kernmembran konnte nicht beobachtet werden. Als Zeichen der Teilungsbereitschaft des Kernes kann eine erhöhte Aktivität und Vergrößerung des Hofes festgestellt werden: Hakenbildungen nach allen Richtungen, Auftreten von Viereckformen, Spitzen und Schwänzen und lebhaftes Hin- und Herschwingen.

Zur Gewinnung einer erhöhten Anzahl teilungsbereiter Kerne wurde die von SMITH (1923) bei *Saprolegnia* beschriebene Kältebehandlung erfolgreich angewendet. Die wachsenden Agarkulturen wurden einer 1—2stündigen Kälteeinwirkung ausgesetzt und anschließend wieder in Zimmertemperatur übertragen.

Auch der Nucleolus ändert seine Gestalt, indem er einzelne Spitzen (wie zum „Ausprobieren" einer der Teilung vorangehenden Verlängerung) aussendet und dann wieder abrundet. Derartige Bewegungen dauern im allgemeinen ungefähr eine Stunde (Abb. 1b—j). Dann leuchtet der Hof plötzlich stark auf (Abb. 1l), der Nucleolus spitzt sich einseitig aus (Abb. 1m) und zieht sich in die Länge, gemeinsam mit dem umgebenden Hof, der dabei wieder die normale Lichtintensität zeigt (Abb. 1n—q). Dann erfolgt eine Einschnürung beider Teile (Abb. 1q), oft eine Hakenbildung des Hofmaterials an beiden Enden, und schließlich eine rasche Trennung (Abb. 1r) in zwei Tochterkerne (Abb. 1s). Der Nucleolus rundet sich ab, der umgebende Hof erscheint wieder für kurze Zeit stark glänzend, um schließlich seine normale Helligkeit anzunehmen. Der eigentliche Teilungsvorgang spielt sich innerhalb von 3—4 min ab (Abb. 1l—s). Meist bleibt einer der Tochterkerne in Ruhe, während der andere nach einiger Zeit in Richtung der wachsenden Hyphenspitze abwandert.

Es war leider nicht möglich, den an verschiedenen Kernen beobachteten Teilungsvorgang photographisch zu erfassen. Die halbschematischen Freihandzeichnungen (Abb. 1) sollen den Prozeß der Kernteilung veranschaulichen; sie wurden nach Beobachtungen mit dem Phasenkontrastmikoskop am 20. August 1957 angefertigt.

2. Fixiertes und gefärbtes Material. *a) Feulgen und HCl-Giemsa.* Mit der HCl-Giemsa-Methode ließ sich eine sehr starke Kernfärbung erreichen, sowohl nach Osmiumfixierung, besonders aber nach Behandlung mit Essigsäure-Alkohol. Jedoch war es schwierig, eine intensive Feulgenfärbung zu erhalten, wie schon ROBINOW (1957) bei *Geotrichum candidum* festgestellt hat. Das den Nucleolus umgebende, im Leben nicht deutlich strukturierte Material gibt eine zarte, aber deutliche Feulgenreaktion, deren Sichtbarkeit durch Einlegen in Carminessigsäure erhöht wird (MCINTOSH 1954). Das feulgenpositive Material entspricht dem am lebenden Kern beobachteten lichten Hof, während der dichtere Nucleolus feulgennegativ ist (Abb. 2). Das entsprechende Bild ergibt die gröbere Giemsafärbung (Abb. 3). Die netzähnliche Struktur

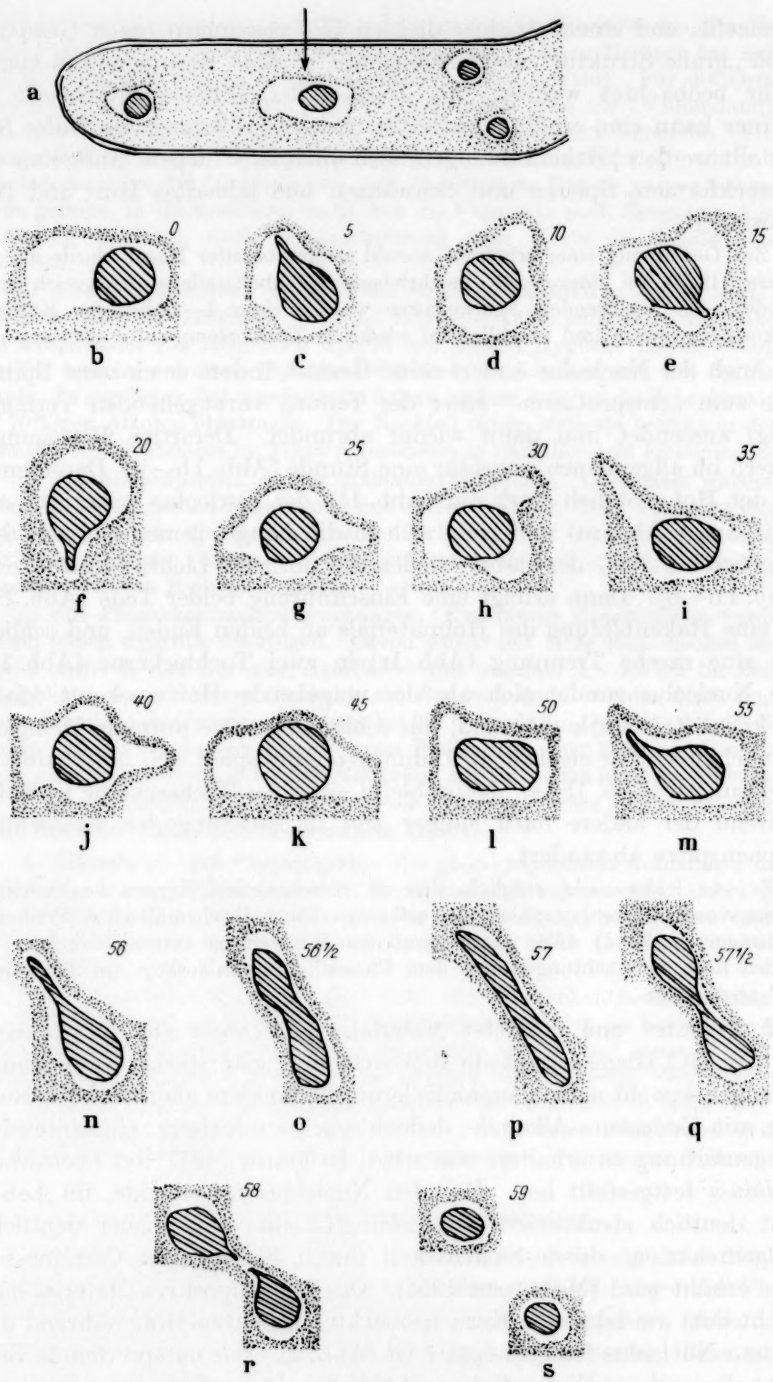


Abb. 1 a—s (Abbildungsunterschrift s. S. 325)

und Granulierung der Chromatinmasse kommt jedoch bei der Feulgenreaktion besser zum Ausdruck. Die Ruhekerne in den Keimschläuchen zeigen zweierlei Formen: einerseits rundlich oder oval (Abb. 2a, b und d), oft mit einer einseitigen „Kappe", einem Viereck oder einer ziemlich dichten Schale chromatischen Materials; andere sind länglich, mit flammenartigen Ausläufern, Schwänzen und Spitzen (Abbildung 2a links und c). Solche Kerne beobachtet man häufig am Übergang von Spore zu Keimschlauch, während oder nach der

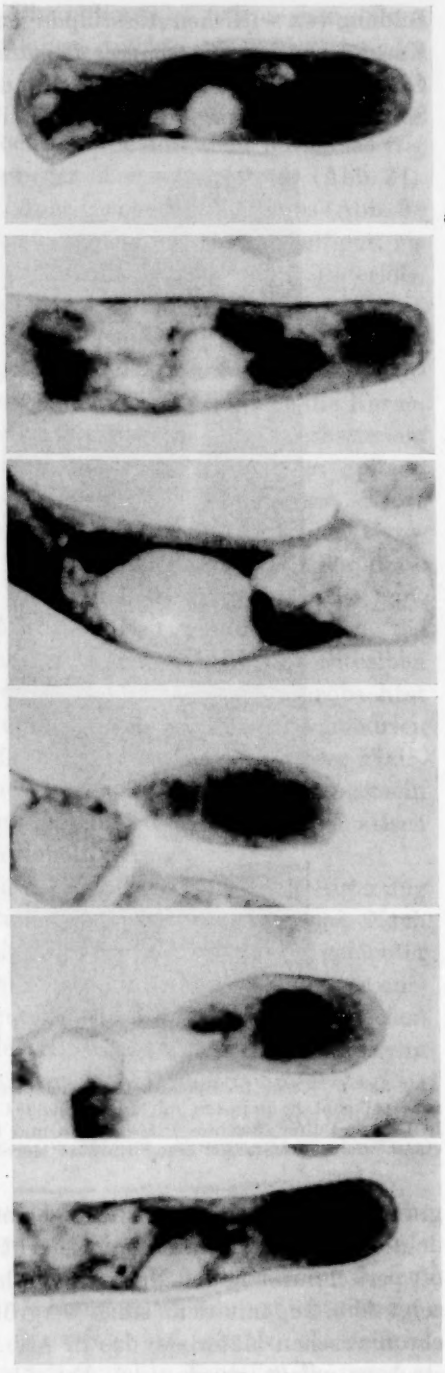


Abb. 2a—f

Abb. 1a—s. Teilung eines lebenden Kernes im Keimschlauch einer Gliederspore von *Geotrichum magnusii*. Freihandzeichnungen nach Beobachtungen am Phasenkontrastmikroskop. a zeigt die wachsende Hyphenspitze mit 4 Kernen. Der Pfeil bezeichnet den Kern, dessen aufeinanderfolgende Erscheinungsformen im Abstand von je 5 min beobachtet wurde (b—m). Bei m setzt die eigentliche Kernteilung ein, die sich innerhalb von 4 min vollzieht (n—s). Die Zahlen geben den Zeitabstand an. Die halbschematischen Bilder zeigen den Nucleolus (schraffiert), der im phasenoptischen Bild dunkelgrau erscheint, umgeben von dem formvariablen Hof (weiß), der dem Außenkern bzw. dem Sitz des Chromatins entspricht, und sich ohne erkennbare Membran gegen das dunklere Cytoplasma (punktiert) abhebt. Nähere Erklärungen s. im Text

Abb. 2a—f. Kerne im Sporenkeimschlauch von *Geotrichum magnusii*, fixiert mit Essigsäure-Alkohol, gefärbt nach FEULGEN, eingeschlossen in Carminessigsäure (feuchtes Präparat). a—d zeigt Formen typischer Ruhekerne, mit ihrer feulgenpositiven Schale, die teilweise durch stärker gefärbte Teilchen hervortritt. e zeigt einen teilungsbereiten Kern, gekennzeichnet durch die Vergrößerung des Nucleolus und der uniformen Chromatinschale. f erfaßt ein frühes Teilungsstadium mit dem länglich-ovalen Nucleolus, umgeben von der auseinanderstrebenden Chromatinmasse (vgl. Fig. 11). Vergr. 1900mal

Bildung von seitlichen Ausstülpungen. BAKERSPIGEL (1957) stellte solche Kernformen bei *Blastomyces dermatitidis* fest und vermutete, daß diese Gestalt durch die Protoplasmaströmung oder bei der Wanderung in einen Seitenzweig hervorgerufen wird. Bei beiden Kernarten lassen sich in der

Abb. 3a—f. Kerne im Sporenkeimschlauch von *Geotrichum magnusii*, fixiert mit Essigsäure-Alkohol, hydrolysiert mit n/HCl bei 60° C, gefärbt mit Giemsalösung, eingeschlossen in Giemsa-Puffer (feuchtes Präparat). a und b zeigt verschiedene Ruhekerne, c—f aufeinanderfolgende Stadien einer direkten Kernteilung (vgl. Abb. 1o—s). Vergr. 3600mal

granulären, wolkenartigen Chromatinmasse Teilchen feststellen, die bedeutend größer und intensiver gefärbt sind als andere (Abb. 2a—d) und oft perlschnurartig den Nucleolus umlagern. Einen teilungsbereiten Kern zeigt Abb. 2e, mit dem stark vergrößerten Nucleolus und der Schale chromatischen Materials, das in Abb. 2f im Stadium des Auseinanderstrebens erfaßt wurde (vgl. Abb. 1k und l). Verschiedene Teilungs-

stadien, die den Beobachtungen im Phasenkontrast entsprechen, konnten in allen Phasen erfaßt werden: langgestreckte, eingeschnürte oder nur noch durch einen zarten Strang verbundene Nucleolen und damit verbunden die Erscheinungsformen des auseinanderstrebenden Chromatins (Abb. 3c—d), die beiden Tochterkerne mit dem noch einseitig gelagerten Chromatin, entsprechend der Teilungsrichtung (Abb. 3f). Fadenartige Stränge auf dem in die Länge gezogenen Nucleolus (Abb. 3c bis f) erwecken leicht den Eindruck einer mitotischen Spindelfigur, sie sind jedoch Teile des auseinanderwandernden chromatischen Materials. Einzelne Chromosomen konnten nicht festgestellt werden.

b) Hämatoxylinpräparate. Eine erfolgreiche Hämatoxylinfärbung ist sehr abhängig von dem vorher angewendeten Fixierungsmittel. Während nach Osmiumtetroxydbehandlung in älteren Mycelteilen die Kerne, Mitochondrien und cytoplasmatischen Strukturen in gut erhaltenem Zustand hervortreten (Abb. 5a und b), erscheinen die jungen Spitzen und Keimschläuche als undefinierbare, einheitlich graue Masse. Trotz vorsichtigster Handhabung konnten aus dem stark basophilen Cytoplasma keine Struktureinzelheiten ausdifferenziert werden. Für diese jungen Mycelpartien, wie auch für die Sporen, bewährte sich die Sanfelice-Fixierung, wobei zwar die Mitochondrien zerstört werden, die Kerne jedoch gut erhalten in Erscheinung treten (Abb. 4). Dieselben Schwierigkeiten wurden bei anderen Pilzen, z.B. *Mucor*, beobachtet (Robinow 1957). Regauds Fixativ erhält die Kerne, Mitochondrien und Cytoplasma gut. Die Farbstoffaufnahme erfolgt nach dieser Fixierungsmethode äußerst langsam, und das Hämatoxylin wird ungemein rasch wieder abgegeben, so daß eine gute Differenzierung problematisch ist, ebenso auch nach Essigsäure-Alkoholfixierung.

Die Gestalt der Kerne zeigt eine befriedigende Übereinstimmung mit den phasenoptischen Beobachtungen am lebenden Material. Nach Sanfelice-Fixierung tritt der Nucleolus als sehr dichter, dunkel gefärbter Körper hervor, umgeben von einem lichten Hof (Abb. 4a). Dieser entspricht den durch die positive Feulgenreaktion lokalisierten chromatischen Bestandteilen, die in diesem Falle keine Affinität zu Hämatoxylin zeigen. Ein solches Verhalten, das von der Hämatoxylinfärbbarkeit pflanzlichen Chromatins abweicht, wurde bereits bei vegetativen Kernen anderer Pilze festgestellt (Robinow, Heim, Pontefract, Baker-Spigel).

Nach Osmiumfixierung tritt das chromatische Material, der Farbintensität der Mitochondrien entsprechend (Abb. 5), etwas dunkler als das umgebende Cytoplasma hervor. Es umgibt den Nucleolus in vielerlei Gestalten. Hellere Stellen darin (Abb. 5a) weisen auf eine uneinheitliche Zusammensetzung dieses Materials hin, ebenso die feinen, den Hof durchziehenden Fäden, die manchmal in Sanfelice-Präparaten

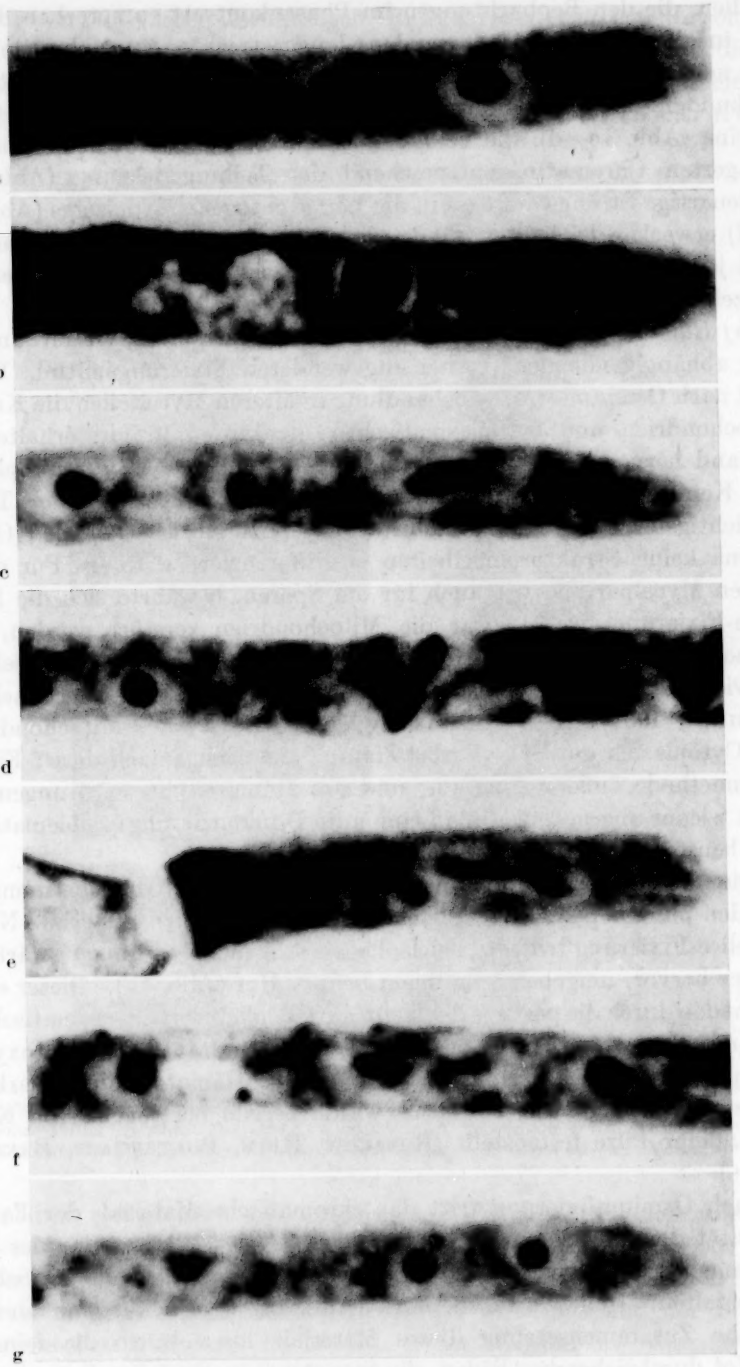


Abb. 4 a—g (Abbildungsunterschrift s. S. 329)

festzustellen sind. Nach Osmium- und Essigsäure-Alkoholbehandlung erscheint die Kernmasse durch eine dichte Konzentrierung granulärer Teilchen in den äußersten Schichten stellenweise sehr deutlich gegen das Cytoplasma abgegrenzt. Derartige Bilder sprechen für die Existenz

a

b

Abb. 5a u. b. Kerne und Mitochondrien in Hyphen von *Geotrichum magnusii*. Nach 24stündigem Wachstum der Deckglas-Agarfilmkultur wurde mit Osmiumtetroxyddämpfen fixiert, mit Eisenhämatoxylin gefärbt, entwässert und in DPX eingebettet. Vergr. 3000mal. Beachte die Formverschiedenheit der Außenkerne (a links oben flammenartig; vgl. FEULGEN Abb. 2a und c) und der Mitochondrien: a zeigt einen jüngeren Hyphenabschnitt, mit wurstförmig kontraktierten Mitochondrien, während sie in älteren Teilen (b) als langgestreckte, fadenartige Gebilde auftreten

einer Kernmembran. Die Mitochondrien durchziehen in älteren Hyphen als wurmartige Fäden netzförmig das Cytoplasma (Abb. 5b). In jüngeren Teilen sind sie kürzer und dichter (Abb. 5a). Eine Konzentrierung

Abb. 4a—g. Kerne in Hyphenspitzen ausgekeimter Sporen von *Geotrichum magnusii*. Nach 10stündigem Wachstum auf einem mit dünnem Agarfilm überzogenen Deckglas, fixiert mit Sanfelice, gefärbt mit Eisenhämatoxylin, dehydriert und in DPX (Kunstharz) eingeschlossen. Vergr. 3600mal. Die Kerne zeigen den dunkel gefärbten Nucleolus, umgeben vom ungefärbten, hellen Hof („Außenkern"). Beispiele verschiedener Stadien der direkten Kernteilung: b teilungsbereiter, stark vergrößerter Nucleolus (vgl. FEULGEN Abb. 2e); c—e Verlängerung und Einschnürung; f nach erfolgter Abschnürung (einer der Tochternucleolen liegt in einer tieferen optischen Ebene und ist nur als Schatten sichtbar); g zwei Tochterkerne nach erfolgter Kernteilung. Beachte in a die Ansammlung von Mitochondrien in der Hyphenspitze

von Mitochondrien konnte in den äußersten Hyphenspitzen beobachtet werden (Abb. 4a). Sowohl in den älteren Mycelteilen, besonders aber in den Keimschläuchen konnten Kernteilungen in allen Stadien erfaßt werden (Abb. 4). Der stark vergrößerte (4b), dann langgestreckte (4c), eingeschnürte (4d, e) und schließlich in zwei Teile getrennte Nucleolus (4f, g) entspricht dem im Phasenkontrast bei der Teilung beobachteten Nucleolus, ebenso der damit verbundene Formwechsel des chromatischen Materials. Der manchmal besonders helle Lichthof (4a, b) kann dem plötzlichen Aufleuchten im Phasenkontrast vor dem Ansatz zur Teilung entsprechen. Eigenartige Formen der chromatischen Kernmasse, wie in den Feulgenpräparaten, konnte man auch bei den osmiumfixierten und hämatoxylingefärbten Kernen beobachten (Abb. 5a links: flammenartig, vgl. Feulgen Abb. 2a).

Ein der Hämatoxylinfärbung und dem Phasenkontrast entsprechendes Bild ergab die Färbung mit Methylenblau und Toluidinblau. Diese beiden basischen Farbstoffe lassen den Nucleolus dunkel hervortreten, umgeben von dem lichten Hof des chromophoben, „chromatischen" (d.h. feulgenpositiven) Materials.

Diskussion

Die vorhergehenden Untersuchungen an *Geotrichum* ergaben einen Einblick in die Struktur und den Teilungsmodus der Kerne. Die phasenoptischen Beobachtungen am lebenden Material und die Untersuchung fixierter und gefärbter Präparate zeigen die Kerne zusammengesetzt aus einem dichten, proteinhaltigen, feulgennegativen Nucleolus und einer feulgenpositiven Hüllmasse, die den Nucleolus in verschiedener Gestalt umgibt. Dieses Hüllmaterial bildet keine einheitliche Masse; stark feulgenpositive, chromatische Teilchen unterscheiden sich von weniger färbbaren; jedoch wurden keine einzelnen Chromosomen festgestellt. Auch der Nucleolus erscheint nicht als homogener Körper; es zeigen sich oft lichtere Stellen, die mit den von GIRBARDT (1955) bei *Polystictus versicolor* beobachteten „helleren Bezirken" zu vergleichen sind, die von GIRBARDT als Nucleolusvacuolen gedeutet werden. Das Chromatin zeigt keine ausgesprochene Affinität zu Hämatoxylin. Der Versuch, mit Hilfe der Methode von ALFERT u. GESCHWIND (1953) Histon nachzuweisen, das sehr oft mit Desoxyribonucleinsäure assoziiert in pflanzlichen und tierischen Kernen auftritt, fiel trotz Anwendung verschiedener Fixierungsmethoden in allen Fällen negativ aus.

Beim Studium des Kernteilungsmechanismus zeigt es sich, daß dieser vom Ablauf einer normalen Mitose abweicht. Die Kernteilung vollzieht sich direkt, d.h. ohne Ausbildung mitotischer Figuren, durch einfache Einschnürung und Trennung sowohl des Nucleolus wie auch der chromatischen Hülle, ohne daß dabei eine wesentliche Veränderung des

chromatischen Materials oder Herausdifferenzierung einzelner Chromosomen stattfindet. All diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß hier Verhältnisse vorliegen, die vom normalen Verhalten pflanzlicher und tierischer Kerne abweichen. Zu derartigen Folgerungen kamen schon SCHMITZ (1879) und in jüngster Zeit ROBINOW, GIRBARDT, BAKERSPIGEL und PONTEFRACT bei ihren Studien pilzlicher Kernstrukturen. Nach GIRBARDTs Lebendbeobachtungen an *Polystictus versicolor* zeigen die Kerne eine „graue Struktur" (schwarz im Phasenkontrast), umgeben von einem sehr formlabilen, spindelartigen bis lappigen lichten Hof („Außenkern"). Ein derartiges Bild ergaben die Lebenduntersuchungen an *Mucor* (ROBINOW) und *Blastomyces dermatitidis* (BAKERSPIGEL). Unsere Beobachtungen an *Geotrichum* lassen entsprechende Verhältnisse erkennen.

Die Größen- und Formlabilität des Nucleolus belegt GIRBARDT (1955) mit einer Folge von phasenoptischen Bildern, die als „scheinbare Nucleolusteilung" bezeichnet wird (langgestreckter Nucleolus, bis zu einer fast vollständigen Zweiteilung, dann Wiederverschmelzung). Der Autor weist darauf hin, daß dieses Verhalten des Nucleolus zu irrigen Vorstellungen über den Ablauf der Kernteilung bei den Basidiomyceten geführt haben mag. Eine Analyse dieses offenbar sehr verwickelten Vorganges wird durch Untersuchungen an *Trametes gibbosa* (GIRBARDT 1956) versucht. Abbildungen zweier durch einen zarten Strang verbundener Nucleolen, dann aber auch von zwei völlig getrennten Kernen werden als das allgemein als „Telophase" bezeichnete Stadium beschrieben. Es scheint somit die Frage der Kernteilung bei den Basidiomyceten weiterhin ungeklärt. Bei den Phycomyceten jedoch ergaben ROBINOWs Lebendbeobachtungen bei *Mucor hiemalis* ein eindeutiges Bild des Kernteilungsvorganges: Verlängerung, Abschnürung und Trennung des Nucleolus wie auch des umgebenden Hofes. Unsere Beobachtungen bei *Geotrichum* zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit den Vorgängen bei *Mucor*. Auch bei *Blastomyces dermatitidis* vollzieht sich nach den Phasenkontrastuntersuchungen BAKERSPIGELs die Kernteilung durch eine Verlängerung und Einschnürung des Kernmaterials, ohne daß einzelne Chromosomen sichtbar werden; jedoch verschwindet dabei der Nucleolus und wird in den Tochterkernen neu gebildet.

Problematisch bleibt die Frage einer Kernmembran, die in früheren Abbildungen pilzlicher Kerne so eindeutig zum Ausdruck gebracht wird. In manchen Präparaten konnte eine deutliche Abgrenzung des Kernmaterials gegen das umgebende Cytoplasma festgestellt werden, was für die Existenz einer Kernmembran spricht. Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen pilzlicher Feinstrukturen konnte bei verschiedenen Pilzen eine Kernmembran nachgewiesen werden: bei den Zoosporen von *Allomyces* (TURIAN u. KELLENBERGER 1956), den Hyphen

von *Coccidioides immitis* (O'HERN u. HENRY 1956), Hefezellen (AGAR u. DOUGLAS 1957) und dem Basidiomyceten *Polystictus versicolor* (GIRBARDT 1958). Die oft bizarre, sehr veränderliche, amöboide Erscheinungsform der Kerne könnte als negativer Punkt für die Existenz einer echten Kernmembran betrachtet werden. Jedoch zeigt GIRBARDT (1958) ein elektronenmikoskopisches Bild lappiger Kernausläufer, begrenzt von einer Membran, die als beiderseitig von einer kontrastreichen Linie begrenzte kontrastarme Schicht in Erscheinung tritt. Unsere noch nicht abgeschlossenen elektronenmikoskopischen Untersuchungen an *Mucor* und *Geotrichum* ließen bis jetzt keine derartigen Strukturen erkennen. Dagegen traten bei den Ultradünnschnitten keimender Sporen von *Endogone* teilweise Membranstrukturen am Kernort auf. Diese Befunde erfordern jedoch weitere Untersuchungen und Belege, über deren Ergebnisse erst zu einem späteren Zeitpunkt berichtet werden kann.

Summary

The nuclei in germinating spores and growing hyphae of *Geotrichum magnusii* and *G. candidum* have been examined during life and in fixed and stained preparations.

The spores and the cells of the hyphae are multinucleate. The nuclei consist of a dense Feulgen-negative nucleolus surrounded by a less dense shell of Feulgen-positive particles. No membrane was seen at the margin of either living or fixed and stained nuclei. The mass of chromatin and the nucleolus divide at the same time by elongation followed by constriction. Chromosomes could not be detected in either resting or dividing nuclei.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Department of Bacteriology, Faculty of Medicine, University of Western Ontario, London (Kanada), ausgeführt.

Herrn Dr. C. ROBINOW bin ich zu besonderem Dank verpflichtet, für seine Anregungen und die Ermöglichung dieser Arbeiten, mit Hilfe einer Forschungsbeihilfe des National Research Council of Canada.

Den Herren A. BAKERSPIGEL und R. PONTEFRACT bin ich gleichfalls für viele Anregungen dankbar.

Literatur

AGAR, H. D., and H. C. DOUGLAS: Studies on the cytological structure of yeast: Electron microscopy of thin sections. J. Bact. **73**, 365—375 (1957). — BAKER, I. R., and B. M. JORDAN: Miscellaneous contributions to microtechnique. Quart. J. micr. Sci. **94**, 237—242 (1953). — BAKERSPIGEL, A.: The structure and mode of division of the nuclei in the yeast cells and mycelium of *Blastomyces dermatitidis*. Canad. J. Microbiol. **3**, 923—936 (1957). — CARMICHAEL, J. W.: The cellophane technique for studying morphology and hyphal fusions in fungi. Mycologia (N. Y.) **48**, 450—453 (1956). — CASSEL, W. A., and W. G. HUTCHINSON: Nuclear studies on the smaller Myxophyceae. Exp. Cell Res. **6**, 134—156 (1954). — FLEMMING, A., and G. SMITH: Some methods for the study of moulds. Trans.

Bost. Mycol. Soc. **27**, 13—19 (1944). — GIRBARDT, M.: Lebendbeobachtungen an *Polystictus versicolor*. Flora (Jena) **142**, 540—563 (1955). — Lebendbeobachtungen der Kernteilung bei Basidiomyceten. Naturwissenschaften **43**, 429—430 (1956). — Über die Substruktur von *Polystictus versicolor* L. Arch. Mikrobiol. **28**, 255—269 (1958). — HEIM, P.: Les noyaux dans le cycle évolutif de *Plasmodiophora Brassicae Woron*. Rev. mycol. **20**, 131—157 (1955). — LUTERAAN, P.-J., et CH. GUYOTJEANNIN: Application de la méthode de Feulgen Rossenbeck aux cultures sur lames gélosées. Ann. Inst. Pasteur **86**, 253—258 (1954). — MCINTOSH, P. L.: A Feulgen-carmine technic for staining fungus chromosomes. Stain Technol. **29**, 29—31 (1954). — NEUMANN, F.: Untersuchungen zur Erforschung der Kernverhältnisse bei den Bakterien. Zbl. Bakt., II. Abt. **103**, 385—400 (1941). — O'HERN, E. M., and B. S. HENRY: A cytological study of *Coccidioides immitis* by electron-microscopy. J. Bact. **72**, 632—645 (1956). — PIEKARSKI, G.: Zytologische Untersuchungen an Paratyphus- und Colibakterien. Arch. Mikrobiol. **8**, 428—439 (1937). — PONTEFRACT, R. D.: Structure and mode of division of vegetative nuclei in Penicillium. M. Sc. Thesis, Univ. of Western Ontario, London, Kanada 1956. — ROBINOW, C. F.: A study of the nuclear apparatus of bacteria. Proc. roy. Soc. B **130**, 299—324 (1942). — The chromatin bodies of bacteria. Bact. Rev. **20**, 207—242 (1956). — The structure and behavior of the nuclei in spores and growing hyphae of Mucorales. I. *Mucor hiemalis* and *Mucor fragilis*. Canad. J. Microbiol. **3**, 771—789 (1957). — The structure and behavior of the nuclei in spores and growing hyphae of Mucorales. II. *Phycomyces blakesleeanus*. Canad. J. Microbiol. **3**, 791—798 (1957). — SCHMITZ, F.: Über die Zellkerne der Thallophyten. S.-B. d. niederrh. Ges. Bonn, Aug., S. 345—367, 1879. — SMITH, F. E. V.: On direct nuclear divisions in the vegetative mycelium of *Saprolegnia*. Ann. Botany **37**, 63—73 (1923). — TURIAN, G., and E. KELLENBERGER: Ultrastructure du corps paranucléaire des mitochondries et de la membrane nucléaire des gametes d'*Allomyces macrogynus*. Exper. Cell Res. **11**, 417—422 (1956).

Dr. ROSWITHA SCHMID,
817 West End Avenue 8B, New York 25, N.Y. USA

Planta, Bd. 52, S. 334—350 (1958)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. Hämmerling, Wilhelmshaven

ÜBER QUANTITATIVE VERÄNDERUNGEN DER CHLOROPLASTEN- UND CYTOPLASMATISCHEN PROTEINE IN KERNLOSEN TEILEN VON ACETABULARIA MEDITERRANEA*

Von

HEINZ CLAUSS

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. August 1958)

Einleitung

Seit den Untersuchungen von HÄMMERLING (1934a) ist die Grünalge *Acetabularia mediterranea* neben der Amöbe ein bevorzugtes Objekt zum Studium zellphysiologischer Probleme an auf experimentellem Wege hergestellten kernlosen Zellen.

In den letzten Jahren hat sich die Fragestellung besonders auf die Proteinsynthese in kernfreien Zellen bzw. Teilstücken von Zellen konzentriert. HÄMMERLING hat bereits 1934 darauf hingewiesen, daß in wachsenden kernlosen Zellen mit der Volumenvergrößerung eine Zunahme von Cytoplasma und Chloroplasten erfolgt, womit auch eine Vermehrung der Zellproteine verbunden sein muß. Diese Vorstellung konnte in der Zwischenzeit von verschiedenen Autoren durch quantitative Bestimmungen des Proteinstickstoffes bestätigt werden (VANDERHAEGHE 1954, WERZ zitiert in HÄMMERLING 1955, BRACHET, CHANTRENNE und VANDERHAEGHE 1955, BRACHET und CHANTRENNE 1956, WERZ und HÄMMERLING (1959), HÄMMERLING u. Mitarb. 1959). Diese Untersuchungen haben gezeigt, daß im Cytoplasma zur Proteinsynthese befähigte Systeme vorhanden sind, die über einen gewissen Zeitraum auch ohne direkte Beteiligung des Zellkernes wirksam bleiben. Ein indirekter Einfluß des Zellkernes ist jedoch in jedem Falle zu beobachten, insofern als die Synthese je nach Herkunft der geprüften Teile früher oder später aufhört.

Da die Mehrzahl der Untersuchungen sich fast ausschließlich auf die Bestimmung der Gesamtproteine beschränkt und über die Veränderung der Chloroplastenproteine und cytoplasmatischen Proteine nur vereinzelte Angaben vorliegen (VANDERHAEGHE 1954, BRACHET und CHANTRENNE 1956), wurde in der vorliegenden Mitteilung versucht, einen Einblick in die quantitativen Veränderungen dieser Proteinfraktionen zu gewinnen.

* Für die Gewährung von Sachbeihilfen sei der Deutschen Forschungsgemeinschaft an dieser Stelle gedankt.

Material und Methode

Für die Versuche wurden nach der Methode von HÄMMERLING (1944) und BETH (1953) kultivierte *Acetabularia mediterranea* verwendet. Aus kurz vor der Hutbildung stehenden Zellen (28—32 mm lang) wurden durch Zerschneiden kernlose „Vorderstücke" und „Hinterstücke" sowie kernhaltige „Hinterstücke mit Rhizoid" von je 10 mm Stiellänge hergestellt (Abb. 1: 1a—c). Außerdem wurden in weiteren Versuchen „kernlose Zellen" (durch Amputation des Rhizoides gewonnen) von 15—18 mm und 26—28 mm Ausgangslänge untersucht und mit ganzen Zellen derselben Länge verglichen (Abb. 1: 2a, b u. 3a, b). 36 Std nach dem Zerschneiden (in der Zwischenzeit standen die Teilstücke bzw. ganzen Zellen in diffusem Schwachlicht) erfolgte die Bestimmung ihres Proteingehaltes (Tag 0). Das Verhalten der Teilstücke bzw. Zellen wurde bis zum 28. Tage verfolgt. In der Zwischenzeit erhielten sie an künstlichen Sonnen täglich 12 Std Licht (≅ 2500 Lux, Philips-Leuchtstoffröhren TL 20 W 29). Die Temperatur betrug 21—23° C.

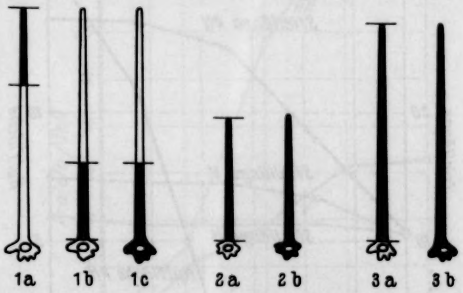


Abb. 1. Schematische Darstellungen der untersuchten Zellteile und ganzen Zellen. Schwarz: untersuchte Teile. 1. Teilstücke: 1a kernlose „Vorderstücke", 1b kernlose „Hinterstücke", 1c kernhaltige „Hinterstücke mit Rhizoid". Länge der Stielstücke 10 mm. Ausgangszellen 28—32 mm, kurz vor Hutbildung stehend. 2. Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge: 2a kernlos, 2b kernhaltig. 3. Zellen von 26—28 mm Ausgangslänge: 3a kernlos, 3b kernhaltig

Um einen Einblick in die während des Versuches geleistete Formbildung (HÄMMERLING 1934a) zu bekommen, wurde vor der Aufarbeitung Stiellänge und Hutdurchmesser als Maß für Stiel- und Hutwachstum bestimmt.

Die Versuchspflanzen stammten aus verschiedenen Kulturen, jedoch wurden innerhalb eines Versuches nur Zellen gleicher Aufzucht verwendet.

Proteinbestimmung. Die Zellproteine wurden in Chloroplasten- und in lösliche Proteine (d. s. die bei Pufferextraktion in Lösung verbleibenden Proteine) unterteilt. Zu ihrer Gewinnung wurden die Zellen zur Entfernung der anhaftenden Bakterienschleier gepinselt und danach in Phosphatpuffer von p_H 7,0 (m/15), 0,25 m an Rohrzucker, in Glas-Homogenisatoren vom Typ Potter-Elvehjem aufgeschlossen. Das Homogenat wurde zur Entfernung der Zellmembranteile durch Müller-Gaze filtriert und quantitativ in Zentrifugenbecher übergeführt und mit Puffer auf 5 ml aufgefüllt.

Im Anschluß an die Zentrifugation (10 min bei 5000 g) wurde im Überstand (lösliches Protein) der Proteingehalt nach LOWRY u. Mitarb. (1951), modifiziert nach RICHTER (1956), bestimmt. Zur Berechnung des Proteingehaltes wurde der von RICHTER (1956) ermittelte Umrechnungsfaktor verwendet.

Die abzentrifugierten Chloroplasten wurden erneut in Puffer suspendiert und nach dem Abzentrifugieren zur Extraktion der Chloroplastenfarbstoffe mit Methanol versetzt. Dieser Methanol-Extrakt diente zur Bestimmung des Chlorophyllgehaltes (s. unten). Danach wurden die Chloroplasten zunächst 30 min mit 10% Trichloressigsäure (TCE) bei 4° C extrahiert, anschließend mit 5% TCE, 50%igem Methanol, Methanol, Methanol-Äther (2:1) und Äther nachgewaschen.

Nach dieser Vorbehandlung erfolgte die Bestimmung des Proteinstickstoffes nach KJELDAHL (Vorlage 2%ige Borsäure, Mischindicator Bromkresolgrün-

Methylrot, Titration mit n/100 bzw. n/200 H_2SO_4). Um diese Werte mit der löslichen Fraktion vergleichen zu können, wurde wie üblich der dem Protein-N entsprechende Proteingehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25 berechnet.

Es ist damit zu rechnen, daß bei der Aufarbeitung der Teile leicht extrahierbare Proteine aus den Chloroplasten in die lösliche Fraktion übertreten (CLAUSS 1959). Außerdem war eine vollständige Abtrennung des Cytoplasmas von den Chloroplasten auch nach mehrfachem Waschen mit Puffer, infolge der starken Viscosität des Plasmas nicht möglich. Um diese möglichen Fehler für alle Teile gleich zu halten, wurde die Fraktionierung mit größter Gleichmäßigkeit durchgeführt.

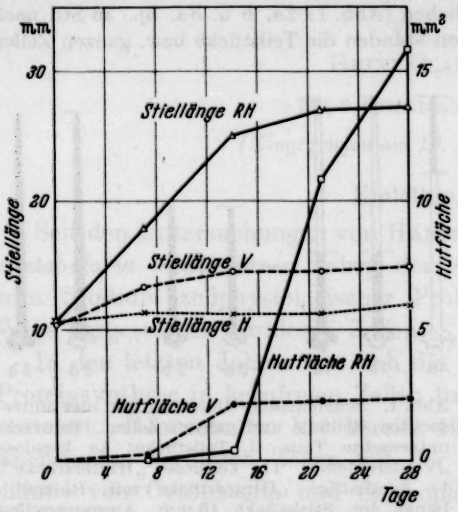


Abb. 2. Formbildung von Vorderstücken, Hinterstücken und Hinterstücken mit Rhizoid. Als Maß für das Stielwachstum ist die Stiellänge (in mm), als Maß für das Hutwachstum die Hutfläche (in mm²) angegeben. Hinterstücke: ×·····× Stiellänge, Vorderstücke: o– – –o Stiellänge, ●– – –● Hutfläche, Hinterstücke mit Rhizoid: △——△ Stiellänge. □——□ Hutfläche. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn

Jeder Kurvenpunkt wurde aus 3—5 Einzelwerten errechnet, die ihrerseits durch Aufarbeitung von 30—50 Teilen gewonnen wurden.

Um Anhaltspunkte über die Brauchbarkeit der Fraktionierung und der Proteinbestimmung zu bekommen, wurde in einigen Versuchen am gleichen Material zusätzlich das TCE-unlösliche Gesamtprotein bestimmt. Die der N-Bestimmung vorausgehende Extraktion der Teile war dieselbe wie für die Chloroplastenproteine, nur mit dem Unterschied, daß die Behandlung mit 10% TCE auf 4 Std ausgedehnt wurde. Der Proteingehalt wurde aus dem N-Gehalt durch Multiplikation mit 6,25 berechnet. Die ermittelten Differenzen zwischen dem Gesamtprotein und der Summe aus löslichem und Chloroplastenprotein bewegten sich in vertretbaren Grenzen (maximale Abweichungen $\pm$ 6%.)

Chlorophyllbestimmung. Die Chlorophylle wurden, wie bereits oben erwähnt, quantitativ mit einer abgemessenen Menge Methanol extrahiert und der relative Chlorophyllgehalt im Beckman-Spektralphotometer bei 665 mμ gemessen. Da im Vordergrund unserer Untersuchungen nur die relativen Leistungen der Teile bzw. Zellen standen, wurde auf Absolutwerte verzichtet. Außerdem ergaben nach dem Verfahren von COMAR und ZSCHEILE (1942) durchgeführte Absolutmessungen einen konstanten Quotienten Chlorophyll a/b, so daß auch Relativmessungen ein genaues Bild der Veränderungen des Gesamtchlorophyllgehaltes liefern.

Ergebnisse

1. Teilstücke. Werden Zellen im Stadium „kurz vor der Hutbildung" in 1 cm lange Vorderstücke und Hinterstücke zerschnitten (siehe methodischer Teil und Abb. 1), so wachsen die ersteren in die Länge und bilden Wirtel und z. T. Hüte, während die letzteren in der Regel an den Schnittstellen nur Abschlußkappen bilden. Hinterstücke mit Rhizoid (also mit Zellkern) können die amputierte Spitze regenerieren und zur normalen Zelle heranwachsen (Abb. 2), (HÄMMERLING 1934a).

Wie schon auf Grund der Bestimmungen des Gesamt-Protein-Stickstoffes zu erwarten war (WERZ und HÄMMERLING, HÄMMERLING u. Mitarb. 1959), sind kernfreie Teilstücke innerhalb eines bestimmten

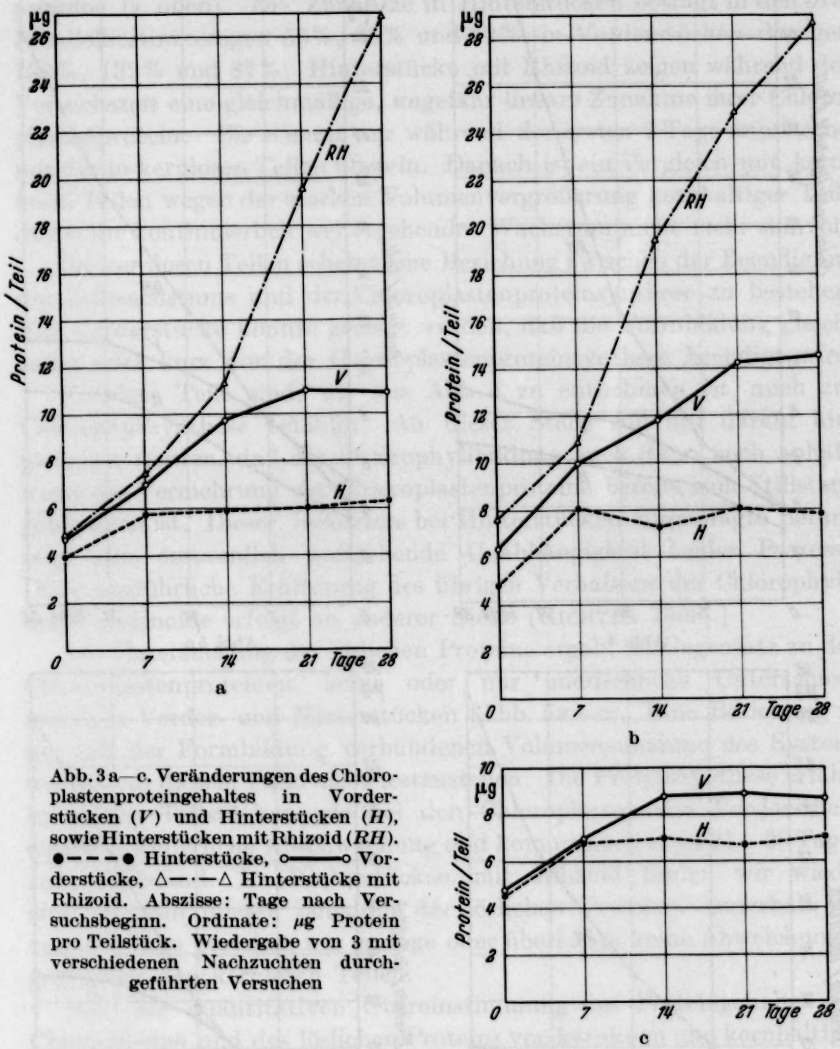


Abb. 3a—c. Veränderungen des Chloroplastenproteingehaltes in Vorderstücken (*V*) und Hinterstücken (*H*), sowie Hinterstücken mit Rhizoid (*RH*). ●– – –● Hinterstücke, o——o Vorderstücke, △—·—△ Hinterstücke mit Rhizoid. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: µg Protein pro Teilstück. Wiedergabe von 3 mit verschiedenen Nachzuchten durchgeführten Versuchen

Zeitraumes nach dem Zerschneiden der Zellen zur Synthese von Chloroplastenproteinen befähigt (Abb. 3a—c).

In Hinterstücken vermehren sie sich nur innerhalb der ersten 7 Tage nach dem Zerschneiden der Zelle. (Ob der Höchstwert schon vor dem 7. Tag erreicht wird, wurde nicht geprüft.) Zwischen dem 7. und 28. Tage waren keine weiteren Veränderungen, insbesondere keine Abnahme zu beobachten. In Vorderstücken läuft die Synthese sicher

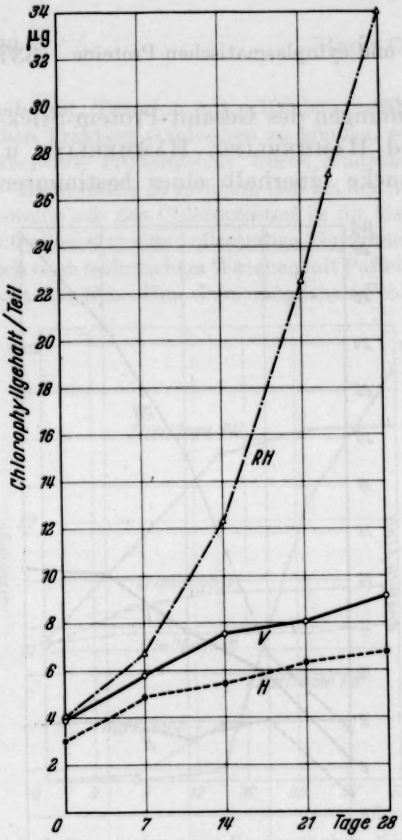


Abb. 4

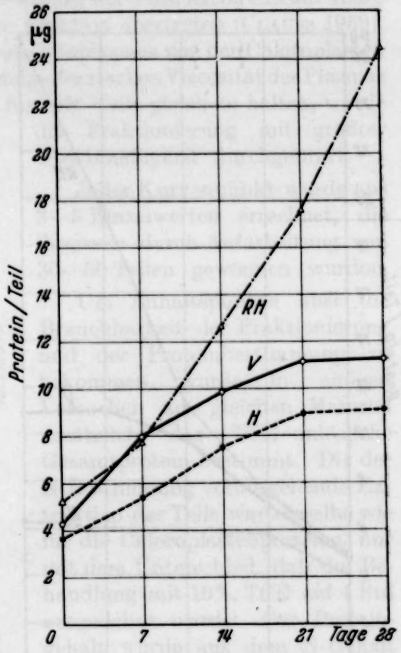


Abb. 5a

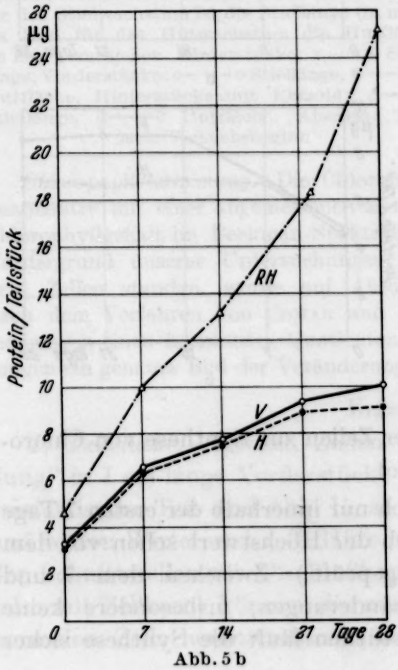


Abb. 5b

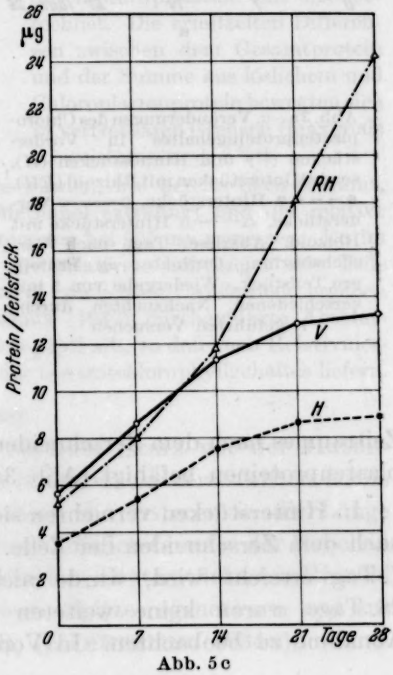


Abb. 5c

(Abbildungsunterschriften auf S. 339)

bis zum 14. (Abb. 3c), z. T. sogar bis zum 21. Tage weiter (Abb. 3a, b). Für die Synthese der Chloroplastenproteine in Vorder- und Hinterstücken gelten demnach dieselben Gesetzmäßigkeiten wie für die Gesamtproteine (s. oben). Die Zunahme in Hinterstücken beträgt in den drei Parallelbestimmungen 58%, 65% und 52%, in Vorderstücken dagegen 132%, 132% und 87%. Hinterstücke mit Rhizoid zeigen während der Versuchszeit eine gleichmäßige, ungefähr lineare Zunahme ihrer Chloroplastenproteine. Sie stimmt nur während der ersten 7 Tage annähernd mit der in kernlosen Teilen überein. Danach ist ein Vergleich mit kernlosen Teilen wegen der starken Volumenvergrößerung kernhaltiger Teile durch ihr kontinuierlich weitergehendes Wachstum nicht mehr sinnvoll.

Bei kernlosen Teilen scheint eine Beziehung zwischen der Beendigung des Zellwachstums und der Chloroplastenproteinsynthese zu bestehen. Für Vorderstücke konnte gezeigt werden, daß die Formbildung gleichzeitig oder kurz vor der Chloroplastenproteinsynthese beendigt wird.

Kernlose Teile sind, wie aus Abb. 4 zu entnehmen ist, auch zur *Chlorophyll*synthese befähigt. An dieser Stelle soll nur darauf hingewiesen werden, daß die Chlorophyllbildung auch dann noch anhält, wenn die Vermehrung der Chloroplastenproteine bereits zum Stillstand gekommen ist. Dieser, besonders bei Hinterstücken ausgeprägte Befund zeigt eine erstaunlich weitgehende Unabhängigkeit beider Prozesse. [Eine ausführliche Erörterung des übrigen Verhaltens der Chlorophylle und Carotinoide erfolgt an anderer Stelle (Richter 1958).]

Die Untersuchung der löslichen Proteine ergab, im Gegensatz zu den Chloroplastenproteinen, keine oder nur unerhebliche Unterschiede zwischen Vorder- und Hinterstücken (Abb. 5a—c). Eine Beziehung zu der mit der Formbildung verbundenen Volumenzunahme des Systems war also in diesem Falle nicht festzustellen. Die Proteinsynthese erfährt in beiden Teilstücken wie bei den Chloroplasten der Vorderstücke eine kontinuierliche Abschwächung und kommt nach etwa 21—28 Tagen zum Stillstand. In Hinterstücken mit Rhizoid finden wir wieder eine ungefähr lineare Zunahme der löslichen Proteine. Innerhalb der ersten 7 Tage bestehen nur geringe oder überhaupt keine Abweichungen gegenüber den kernlosen Teilen.

Aus der quantitativen Übereinstimmung des Proteingehaltes der Chloroplasten und des löslichen Proteins von kernlosen und kernhaltigen

Abb. 4. Verhalten des Gesamt-Chlorophyllgehaltes von Vorderstücken (*V*), Hinterstücken (*H*) und Hinterstücken mit Rhizoid (*RH*). ●– – –● Hinterstücke, o——o Vorderstücke, △—·—△ Hinterstücke mit Rhizoid. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: Chlorophyllgehalt pro Teilstück, relative Einheiten

Abb. 5a—c. Verhalten der löslichen Proteine von Vorderstücken (*V*) und Hinterstücken (*H*) sowie Hinterstücken mit Rhizoid (*RH*). ●– – –● Hinterstücke, o——o Vorderstücke, △—·—△ Hinterstücke mit Rhizoid. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: µg Protein pro Teilstück. Abb. 5a—c geben die zu den Abb. 3a—c gehörenden löslichen Proteine wieder

Teilstücken in den ersten 7 Tagen nach dem Zerschneiden der Zellen darf jedoch nicht auch auf eine qualitativ gleiche Leistung geschlossen werden. Dieser Einwand wird u. a. durch die quantitativen und qualitativen Unterschiede der in diesem Zeitraum geleisteten Formbildungen nahegelegt (Abb. 2). Auch die Bestimmungen der Aktivität der sauren Phosphatase zeigen, daß grundsätzliche Unterschiede zwischen kernhaltigen und kernlosen Teilen bestehen können (KECK und CLAUSS 1958, HÄMMERLING u. Mitarb. 1959).

Das Anfangsverhältnis der löslichen, also vorwiegend cytoplasmatischen Proteine zu den Chloroplastenproteinen war ungefähr 1:1 (der Anteil der Chloroplastenproteine am Gesamtprotein liegt zwischen 46% und 65%). Die Absolutwerte variierten jedoch zwischen den einzelnen Kulturen. Sie waren in Hinterstücken niedriger oder höchstens gleich wie in Vorderstücken. In den von WERZ untersuchten Kulturen war der Gesamt-Protein-N in Hinterstücken bis doppelt so hoch wie in Vorderstücken (HÄMMERLING u. Mitarb. 1959, WERZ u. HÄMMERLING 1959). Solche Unterschiede beruhen auf den nicht voll konstant zu haltenden Anzuchtbedingungen und den Abweichungen bei den verschiedenen Nachzuchten, wobei Stieldickenunterschiede zwischen der vorderen und hinteren Stielregion eine Rolle spielen dürften.

Im Gegensatz zu VANDERHAEGHES (1954) Bestimmungen war in keinem Fall in kernlosen Teilstücken ein Abbau der Chloroplastenproteine innerhalb 28 Tagen festzustellen. Ferner konnten wir, ebenso RICHTER (1958), eine Zunahme des Chlorophyllgehaltes innerhalb 3—4 Wochen nachweisen, während in den Versuchen von VANDERHAEGHE nach dem 15. Tag keine Zunahme erfolgte. (Da die erste Bestimmung erst 15 Tage nach dem Zerschneiden der Zelle durchgeführt wurde, kann aus den Angaben nicht entnommen werden ob in den vorangegangenen 14 Tagen der Chlorophyllgehalt zugenommen hat. Dasselbe gilt auch für die Chloroplastenproteine). Die Ursache dieser Unterschiede dürfte in nicht optimalen Kulturbedingungen zu suchen sein, worauf auch die geringen morphogenetischen Leistungen der untersuchten Teilstücke hinweisen (s. hierzu HÄMMERLING u. Mitarb. 1959).

2. Kernlose und ganze Zellen. In weiteren Versuchen wurden zellkernfreie ganze (nur rhizoidamputierte) Zellen untersucht. Es sollte dabei geprüft werden, ob die mit Teilstücken erzielten Ergebnisse verallgemeinert werden dürfen.

In Abb. 6 sind die ermittelten Daten für die Chloroplasten- und löslichen Proteine der Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge und in Abb. 7 die entsprechenden Werte der Zellen von 26—28 mm Länge wiedergegeben. Die morphogenetischen Leistungen während der Versuchszeit sind aus Abb. 8 und 9 zu entnehmen.

In beiden Zelltypen werden, wie in wachsenden Vorderstücken, die Chloroplastenproteine und die löslichen Proteine bis zum 21.—28. Tage

synthetisiert. Dies ist insofern überraschend, als das Wachstum bei den 15—18 mm-Zellen bereits nach 14 Tagen beendet ist, während die 26—28 mm-Zellen bis zum Versuchsende ihr Zellvolumen vergrößern. Eine über die Zeit der Volumenvergrößerung hinausgehende Proteinsynthese wurde auch an zwei Serien von 10 mm-Vorderstücken wahr-

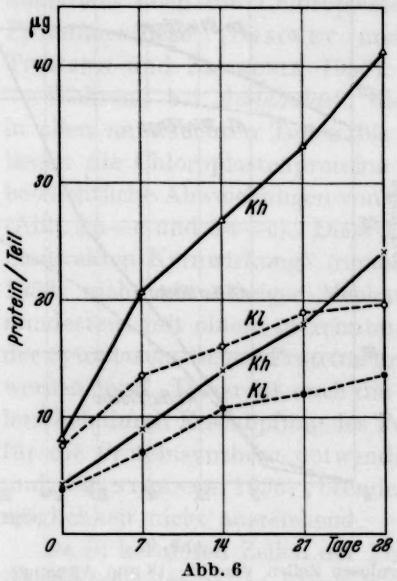


Abb. 6

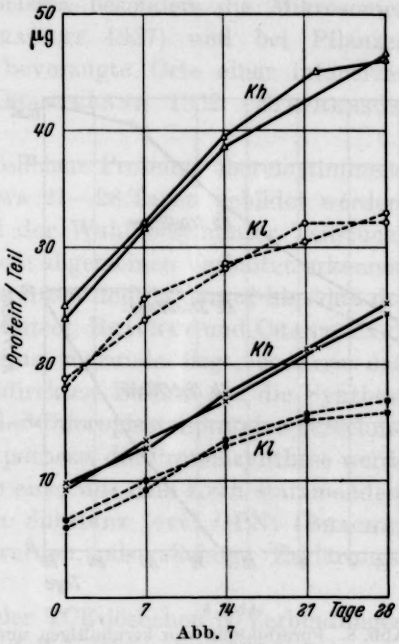


Abb. 7

Abb. 6. Verhalten der Chloroplasten- und löslichen Proteine von kernhaltigen und kernlosen Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge. Kernhaltige Zellen (*Kh*): △——△ Chloroplastenproteine, ×——× lösliche Proteine. Kernlose Zellen (*Kl*): o- - - -o Chloroplastenproteine, ●- - - -● lösliche Proteine. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: µg Protein pro Teilstück

Abb. 7. Veränderungen des Gehaltes an Chloroplasten- und löslichen Proteinen in kernhaltigen und kernlosen Zellen von 26—28 mm Ausgangslänge. Kernhaltige Zellen (*Kh*): △——△ Chloroplastenproteine, ×——× lösliche Proteine. Kernlose Zellen (*Kl*): o- - - -o Chloroplastenproteine, ●- - - -● lösliche Proteine. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: µg Protein pro Teilstück. Wiedergabe von 2 mit verschiedenen Nachzuchten durchgeführten Versuchen

scheinlich gemacht. Dies bedeutet, daß ebenso wie bei den nichtwachsenden Teilen von Anfang an auch bei wachsenden Teilen die Proteinzunahme von der Volumenvergrößerung entkoppelt werden kann (Hämmerling u. Mitarb. 1959, Werz u. Hämmerling 1959).

Nach Brachet u. Mitarb. (1955) ist die Proteinsynthese (gemessen als Zunahme des Gesamt-Protein-Stickstoffes) in kernlosen, aus Zellen im Stadium „Hut in Anlage" hergestellten Teilen sogar höher als in kernhaltigen. Obwohl Abweichungen in der Wahl der Teile bestehen und auch die Licht- und Temperaturverhältnisse vielleicht verschieden waren, bleibt doch darauf hinzuweisen, daß in unseren Versuchen

niemals mehr Proteine synthetisiert wurden als in kernhaltigen Zellen (Abb. 3a—c, 5a—c), auch nicht bei kernlosen ganzen Zellen von 26—28 mm Ausgangslänge, die während des Versuches zu einem hohen Prozentsatz Hüte gebildet haben (Abb. 7 und 9). Im günstigsten Falle war die Nettosynthese bis zum 7. bzw. 14. Tage so hoch wie in kern-

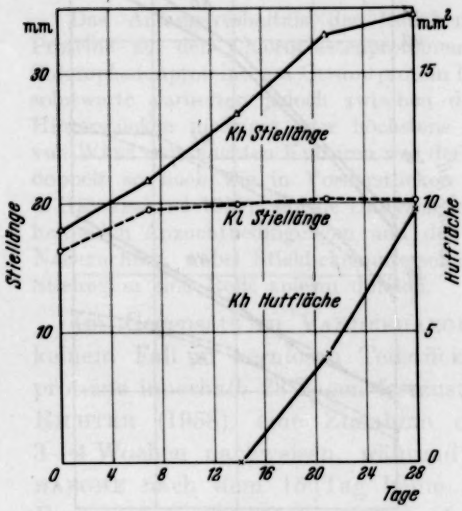


Abb. 8

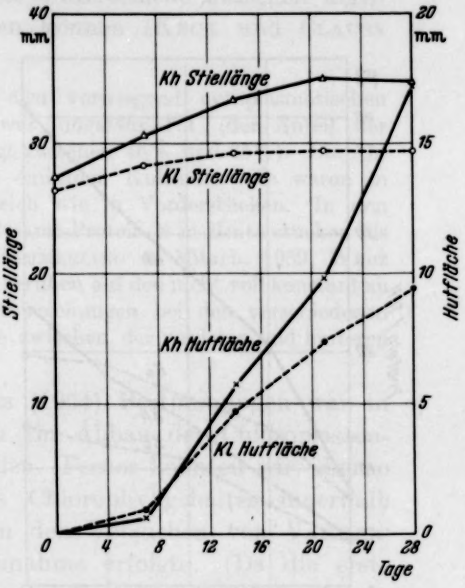


Abb. 9

Abb. 8. Formbildung von kernhaltigen und kernlosen Zellen von 15—18 mm Ausgangslänge. Als Maß für Stielwachstum bzw. Hutwachstum ist die Stiellänge (in mm) bzw. Hutfläche (in mm²) wiedergegeben. Kernhaltige Zellen (*Kh*): △——△ Stiellänge, ×——× Hutfläche. Kernlose Zellen (*Kl*): ○——○ Stiellänge. Kernlose Zellen haben keine Hüte gebildet, was für diese jungen Zellen die Regel ist. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: mm Stiellänge bzw. mm² Hutfläche

Abb. 9. Formbildung von kernhaltigen und kernlosen Zellen von 26—28 mm Ausgangslänge. Als Maß für Stielwachstum bzw. Hutwachstum ist die Stiellänge bzw. Hutfläche wiedergegeben. Kernhaltige Zellen (*Kh*): △——△ Stiellänge, ×——× Hutfläche. Kernlose Zellen (*Kl*): ○——○ Stiellänge, ●——● Hutfläche. Längenwachstum der Stiele bei beiden Zellsorten allmählich, jedoch nur anscheinend abnehmend und ab Tag 21 aufhörend. Grund: mit der Zeit werden immer mehr Hüte gebildet, womit Stielwachstum beendet wird. Abszisse: Tage nach Versuchsbeginn. Ordinate: mm Stiellänge bzw. mm² Hutfläche

haltigen Teilen. Auch speziell dieser Frage gewidmete Untersuchungen führten zum gleichen Ergebnis (CLAUSS u. WERZ unveröff.).

Diskussion

1. Die hier mitgeteilten Ergebnisse bestätigen die von anderen Autoren nachgewiesene indirekte Beteiligung des Zellkernes an der Synthese der Zellproteine von *Acetabularia* (BRACHET und CHANTRENNE 1951, VANDERHAEGHE 1954, BRACHET u. Mitarb. 1955, WERZ

zitiert in HÄMMERLING 1955, HÄMMERLING u. Mitarb. 1959, WERZ u. HÄMMERLING 1959). Dies steht auch in Übereinstimmung mit Untersuchungen über den Einbau von markierten Aminosäuren in die verschiedenen isolierten Zellfraktionen von kernhaltigen tierischen und pflanzlichen Zellen. Außer dem Zellkern (Literaturzusammenstellung bei BRACHET 1957) sind im Cytoplasma besonders die Mikrosomen (Literaturzusammenstellung bei BRACHET 1957) und bei Pflanzen außerdem noch die Chloroplasten bevorzugte Orte einer intensiven Proteinsynthese (BRACHET und CHANTRENNE 1952, STEPHENSON, THIMANN und ZAMECNIK 1956).

Während bei *Acetabularia* die löslichen Proteine übereinstimmend in allen untersuchten Teilen bis etwa 21—28 Tagen gebildet werden, lassen die Chloroplastenproteine bei der Wahl bestimmter Teilstücke beträchtliche Abweichungen von diesem allgemeinen Verhalten erkennen (Abb. 3a—c und 5a—c). Diese Differenzen deuten darauf hin, daß der „indirekten Kernwirkung" (remote control, BRACHET und CHANTRENNE 1956) nicht ein einziger Mechanismus zugrunde liegt, sondern daß mindestens mit einem getrennten indirekten Einfluß auf die Synthese der cytoplasmatischen Proteine und der Chloroplastenproteine gerechnet werden muß. Daher ist auch die Hypothese, die Proteinsynthese werde letztlich durch Erschöpfung des Pools einer aus dem Kern stammenden, für die Proteinsynthese notwendigen Substanz (evt. DPN) (BRACHET und CHANTRENNE 1956) beendet werden, als alleinige Erklärungsmöglichkeit nicht ausreichend.

Da in kernlosen Zellen der Pool der TCE-löslichen N-Verbindungen stärker ansteigt als in kernhaltigen Zellen (GIARDINA 1954, BRACHET u. Mitarb. 1955) dürfte der Ausfall von Proteinvorstufen nicht die Ursache für die allmähliche Beendigung der Proteinsynthese sein, sondern vielmehr auf einen verminderten Einbau dieser Verbindungen in die Zellproteine hinweisen. Auch die Bereitstellung von energiereichem Phosphat ist nach den Angaben von STICH (1955) nicht begrenzender Faktor, ebensowenig eine mangelhafte Synthese von Kohlenhydraten (CLAUSS u. KECK 1959). Diese Befunde lassen daher vermuten, daß in kernlosen Teilen die für die Proteinsynthese wichtigen Zellstrukturen Veränderungen erfahren, die schließlich zur Beendigung der Synthese von Zellproteinen führen. In den folgenden Abschnitten sollen die Ergebnisse unter diesem Gesichtspunkt geprüft werden.

2. Die unter dem Sammelbegriff „lösliche Proteine" zusammengefaßte Fraktion enthält außer den nicht abzentrifugierten Zellorganellen (Mikrosomen, Bruchstücken von Mitochondrien und Chloroplasten) das Rest-Cytoplasma und die nicht an diese Organellen gebundenen Enzyme. Infolge der Heterogenität dieser Fraktion ist es äußerst schwierig, Aussagen über die Vorgänge zu machen, die schließlich zur Sistierung der

Proteinsynthese führen. Deshalb sind auch die folgenden Überlegungen zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch mit einem großen Unsicherheitsfaktor behaftet.

Das Verhalten der wenigen zum gegenwärtigen Zeitpunkt untersuchten Enzyme scheint eine Deutung noch mehr zu komplizieren. Während für Aldolase eine relativ geringe (BRACHET u. Mitarb. 1955), für Fruktosidase (KECK und CLAUSS 1958) und Phosphorylase (CLAUSS 1959) in kernlosen Teilen eine starke Erhöhung der Aktivität nachgewiesen werden konnte, bleibt die der sauren Phosphatase in Teilstücken (Vorder- und Hinterstücken) innerhalb der ersten 7 Tage gleich und fällt anschließend bis zum 28. Tage ab (KECK und CLAUSS 1958). (Vorl. Mitt. in HÄMMERLING u. Mitarb. 1959). Daraus geht hervor, daß die „Kernwirkung" nicht die Synthese der löslichen Proteine als ganzes beeinflußt, sondern daß die einzelnen Proteine anscheinend in verschiedenem Grade unter einer „Abhängigkeit" vom Zellkern stehen. Wie schon BRACHET (1955) auf Grund ähnlicher Befunde bei kernlosen Amöben vermutet hat, ist dies wahrscheinlich damit zu erklären, daß diese Enzyme in den verschiedenen Zellorganellen lokalisiert sind.

In diesem Zusammenhang ist die Sonderstellung der sauren Phosphatase deshalb von speziellem Interesse, weil sie Hinweise liefert, welche der Zellstrukturen in engerer Beziehung zum Zellkern stehen könnten. Nach Untersuchungen an Homogenaten von Leberzellen ist der Hauptanteil dieses Enzyms mit den relativ RNS-reichen Partikeln [more readily sedimented microsomes, NOWIKOFF u. Mitarb. (1953)] vergesellschaftet, die nach ihrer Größe zwischen den Mikrosomen [less readily sedimented microsomes, NOWIKOFF u. Mitarb. (1953)] und den Mitochondrien einzureihen sind (KUFF u. Mitarb. 1955). Dasselbe kann vorläufig per analogiam auch für *Acetabularia* angenommen werden. Auch die Untersuchungen von RICHTER (1957, 1959) und RICHTER und NAORA (1959) weisen indirekt in dieselbe Richtung. Im Gegensatz zu den Befunden von BRACHET u. Mitarb. (1955) konnten sie weder in Teilstücken noch in kernlosen Zellen eine echte Vermehrung der RNS nachweisen. Es besteht also offenbar eine enge Beziehung zwischen dem Zellkern und der cytoplasmatischen RNS, die auch bei *Acetabularia*, von dem Anteil in den Chloroplasten abgesehen, wohl überwiegend in den „Mikrosomen" lokalisiert sein dürfte.

Aus der Abnahme der Aktivität der sauren Phosphatase einerseits und dem Verhalten der RNS andererseits darf wohl geschlossen werden, daß in kernlosen Teilen [dasselbe gilt auch für Amöben (BRACHET 1955)] diese submikroskopischen Zelleinschlüsse in zunehmendem Maße verändert werden, sei es durch den Ausfall einer direkten „Kernwirkung" oder sei es durch unspezifische Veränderungen im umgebenden Cytoplasma. In der Folge muß es, bei der generellen Bedeutung der

Mikrosomenfraktion für die Proteinsynthese von tierischen und pflanzlichen Objekten (s. BRACHET 1957, S. 254ff.), notwendig zu einer Abschwächung und schließlich zu einem allmählichen Stillstand der Proteinsynthese kommen.

Diese zu vermutende enge Abhängigkeit der „Mikrosomen" vom Zellkern liefert auch eine Erklärungsmöglichkeit, warum in allen kernlosen Teilen die Synthese der löslichen Proteine zum gleichen Zeitpunkt beendet wird.

3. Bevor auf die Faktoren, welche die Chloroplastenproteinsynthese beeinflussen, näher eingegangen wird, ist es nötig, auf einige Besonderheiten der Chloroplastenentwicklung bei *Acetabularia* hinzuweisen. In kernhaltigen, sich durch Spitzenwachstum vergrößernden Zellen, findet in der Spitzenregion eine intensive Chloroplastenvermehrung statt. Durch die schnelle Teilungsfolge bleiben die Chloroplasten dort sehr klein (HÄMMERLING 1934b). Die Ausdifferenzierung dieser „Anlagen" zu normalen Chloroplasten findet unter Erhöhung ihres Proteingehaltes in den anschließenden Stielregionen statt. Die Chloroplasten in den hinteren Stielregionen sind demnach durchschnittlich größer als die aus der Spitzenregion (HÄMMERLING 1934b). Dieses für kernhaltige Zellen typische Verhalten bedeutet, daß auch bei kernlosen Teilen die Vermehrung der Chloroplastenproteine auf zwei Wegen erfolgen könnte: 1. durch Heranwachsen der bei der Entfernung des Zellkernes vorhandenen Chloroplastenanlagen und der noch nicht maximal großen Chloroplasten und 2. durch Teilung der Chloroplasten. Es bleibt nun zu prüfen, inwieweit diese Möglichkeiten verwirklicht sind.

In den aus der Zelle herausgelösten Teilen vermögen die Chloroplastenanlagen zur normalen Größe heranzuwachsen. Dies ist besonders deutlich in Vorderstücken zu beobachten. Schon kurz nach der Isolierung verschwindet allmählich die typische Ansammlung der Chloroplastenanlagen in der Spitzenregion und an ihre Stelle treten mehr oder weniger ausgewachsene Chloroplasten. Dasselbe gilt auch für die ganzen kernlosen Zellen. Zusätzlich muß, auch im Hinblick auf die Proteinsynthese in Hinterstücken, die keine oder doch erheblich weniger kleine Chloroplasten enthalten, mit der Vergrößerung ausdifferenzierter, in ihrer Größe aber stark variierenden Chloroplasten gerechnet werden. Die Proteinsynthese müßte, wenn dieses Prinzip allein verwirklicht wäre (s. jedoch unten), spätestens dann beendet sein, wenn die Chloroplasten eine bestimmte Größe erreicht haben, die aus inneren Gründen nicht überschritten wird.

Aus der Organisation der Zelle und aus dem Verhalten der Chloroplasten in isolierten Teilen ergibt sich, daß die Chloroplastenproteine in Vorderstücken stärker zunehmen müssen als in Hinterstücken gleicher Ausgangslänge. Dies dürfte auch die Ursache für die

erhöhte Synthese der Gesamtproteine in Vorderstücken sein (HÄMMERLING u. Mitarb. 1959, WERZ und HÄMMERLING 1959). Möglicherweise werden durch wohl überwiegend in der Spitzenregion ablaufende Chloroplastenteilungen diese Unterschiede noch verstärkt (s. unten).

Ob die zweite Möglichkeit — Vermehrung der Chloroplasten durch Erhöhung der Chloroplastenzahl — in kernlosen Zellen verwirklicht ist, muß entgegen der bisherigen Ansicht von HÄMMERLING (1957) noch offenbleiben. Teilungen voll entwickelter Chloroplasten konnten bisher nicht nachgewiesen werden. Sie dürften daher vorzugsweise auf die Chloroplastenanlagen in der äußersten Spitzenregion beschränkt sein. Dieser Bereich ist aber für eine Direktbeobachtung von Teilungen ungeeignet, abgesehen davon, daß sie im submikroskopischen Bereich erfolgen könnten. Auch Chloroplastenzählungen in Zellhomogenaten sind bis jetzt an den Schwierigkeiten einer exakten Klassifizierung der Zellorganellen gescheitert. *Sicher ist deshalb z. Z. nur die starke Erhöhung der Zahl ausdifferenzierter Chloroplasten.*

In diesem Zusammenhang verdienen Beobachtungen von HEITZ (1922) besondere Beachtung. Auf Grund seiner Untersuchungen über die Chloroplastenteilungen in kernlosen Zellabschnitten von *Funaria* kommt er zu folgendem Schluß: „Der Zellkern hat auf die Chloroplastenteilung einen wesentlichen Einfluß: werden die Protoplasten abgetrennter Blätter durch Plasmolyse in zwei Teile zerlegt, so tritt nur in kernhaltigen Stücken Teilung ein." Ob für kernlose Acetabularien dieselben Gesetzmäßigkeiten gelten und die Erhöhung des Chloroplastenproteingehaltes ausschließlich durch die Ausdifferenzierung der Chloroplastenanlagen erfolgt, ist ungewiß, zumal kernlose Zellabschnitte von *Funaria* auch in anderen Punkten von *Acetabularia* abweichen. So bilden sie z. B. keine Zellmembran und keine Stärke (KLEBS 1887). Auch eine Vergrößerung des Volumens kernloser Teilstücke kommt bei *Funaria* offenbar nicht vor. Es wäre für *Acetabularia* deshalb durchaus denkbar, daß in Übereinstimmung mit den Verhältnissen bei kernhaltigen Zellen auch bei kernlosen während ihrer zeitlich befristeten, von der „Menge der morphogenetischen Substanzen" (HÄMMERLING 1934a, b, 1957, HÄMMERLING, J. u. CH. 1959) abhängenden Wachstumsphase eine Erhöhung ihrer Chloroplastenzahl erfolgt.

Es muß allerdings auf eine Komplikation hingewiesen werden, die sich bei der Annahme einer Erhöhung der Chloroplastenzahl einstellt. Obwohl eine experimentelle Prüfung bei *Acetabularia* noch aussteht, darf angenommen werden, daß ebenso wie bei höheren Pflanzen (CHIBA 1951, MCCLENDON 1952, METZNER 1952, JAGENDORF und WILDMAN 1954) und bei Spirogyra (KECK und STICH 1957) ein Anteil der extranucleären RNS auf die Chloroplasten entfällt. Eine Erhöhung der Chloroplastenzahl in kernlosen Zellen sollte daher gleichbedeutend mit

einer Erhöhung ihres RNS-Gehaltes sein. Dies trifft aber nicht zu (Richter 1957, 1959, und Richter und Naora 1959). Zur Umgehung dieser Komplikation müßte eine einheitliche „Wirkung" des Zellkernes auf die RNS der Zelle aufgegeben werden. Der ermittelte, in kernlosen Teilen unverändert bleibende RNS-Gehalt wäre danach als Summe aus evtl. zunehmender Chloroplasten-RNS und abnehmender cytoplasmatischer RNS aufzufassen (s. Richter 1959).

Die durch das Heranwachsen der Chloroplasten (und evtl. durch Teilungen) bedingte Proteinzunahme hängt offenbar noch von anderen Faktoren ab. Zur Formbildung befähigte Teile beenden in der Regel spätestens nach 21—28 Tagen die Synthese von Chloroplastenproteinen. Dies kann, abgesehen davon, daß sich bis zu diesem Zeitpunkt die in den kernlosen Teilen vorhandenen Chloroplasten voll entwickelt haben könnten, noch auf zwei andere Ursachen zurückzuführen sein: 1. die Chloroplasten-RNS unterliegt derselben „Kernabhängigkeit" wie die cytoplasmatische RNS (s. oben). Daraus müßte schließlich, wie auch für die Mikrosomenfraktion angenommen wurde, eine Sistierung der Proteinsynthese resultieren. 2. an der Entwicklung der Chloroplasten sind im Cytoplasma ablaufende Prozesse beteiligt (bzw. im Cytoplasma synthetisierte Substanzen), die infolge von Fehlentwicklungen im Cytoplasma allmählich ausfallen und daher auch eine Synthese von Chloroplastenproteinen verhindern. Welche dieser Möglichkeiten gegenwärtig zutrifft, ist nicht zu entscheiden, jedoch spricht die ungefähr gleichzeitige Beendigung der Synthesen von Cytoplasma- und Chloroplastenproteinen eher für die letztere.

Die Menge der in isolierten Teilstücken synthetisierten Chloroplastenproteine wäre demnach davon abhängig, wieviel zum Wachstum befähigte Chloroplasten vorhanden sind (bzw. evtl. durch Teilungen hinzukommen). Ob diese voll ausdifferenziert werden, würde gegen Ende der Versuchszeit durch cytoplasmatische Faktoren bestimmt werden.

4. Die verschiedenen in kernlosen Zellen früher oder später auftretenden Ausfallserscheinungen müssen letztlich durch den Wegfall des Zellkernes verursacht werden. Wie der Zellkern — direkt oder indirekt — in die verschiedenen Prozesse eingreift, ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch unbekannt. Einige erste Hinweise (Abnahme der Phosphatase-Aktivität in Teilstücken (Keck und Clauss 1958), Sistierung der RNS-Synthese (Richter 1957, 1959, Richter und Naora) sprechen jedoch dafür, daß eine enge Beziehung zwischen dem Zellkern und RNS-haltigen Zellstrukturen besteht. Auch Untersuchungen von Stich und Plaut (1957) unterstützen diese Ansicht. Kernhaltige und kernlose Teilstücke beendigen in ribonuklease-haltigem Medium sofort Formbildung und Proteinsynthese. Während die ersteren nach Übertragen in normales Kulturmedium nach einer kurzen

Erholungspause Wachstum und Proteinsynthese fortsetzen, sind die kernlosen Teile dazu nicht mehr in der Lage. Allerdings wurden hierbei keine Bestimmungen des RNS-Gehaltes vorgenommen.

Es kann ferner nicht ausgeschlossen werden, daß ein mengenmäßig geringer, aber physiologisch aktiver Proteinanteil (Nucleoproteide?) vom Zellkern in das Cytoplasma abgegeben wird. Diese Möglichkeit gewinnt durch die Versuche von MAZIA und PRESCOTT (1955) sowie FICQ (zitiert in BRACHET u. Mitarb. 1955) an Amöben eine gewisse Wahrscheinlichkeit.

5. Die Tatsache, daß auch in kernlosen nichtwachsenden Teilen eine erhebliche, obwohl geringere Proteinsynthese als in wachsenden Teilen erfolgt — was auch für die Gesamtproteinstickstoffzunahme gezeigt werden konnte —, bestätigt, daß die normalerweise bestehende Koppelung von Wachstum und Proteinsynthese aufgehoben werden kann (HÄMMERLING und WERZ 1958, HÄMMERLING u. Mitarb. 1959, WERZ und HÄMMERLING 1959). Es blieb aber bei den Gesamt-Protein-Stickstoff-Untersuchungen notwendigerweise ungeklärt, ob sich cytoplasmatische und Chloroplastenproteine oder nur eine dieser beiden Fraktionen vermehrten. Die Ergebnisse haben gezeigt, daß sie wie bei wachsenden Teilen in beiden erfolgt.

Zusammenfassung

1. Kernlose, aus der Apikal- und Basalregion stammende Teilstücke („Vorderstücke" und „Hinterstücke") und kernlose, durch Amputation des Rhizoides hergestellte ganze Zellen von *Acetabularia mediterranea* sind in einem begrenzten Zeitraum zur Synthese von Chloroplasten- und „löslichen Proteinen" (cytoplasmatischen) befähigt.

2. Die Synthese der löslichen Proteine wird in allen untersuchten Teilen nach etwa 21 Tagen beendet. Die Zunahme dieser Proteine beträgt bei kernlosen Teilstücken innerhalb dieser Zeitspanne etwa 150%, bei kernlosen ganzen Zellen maximal 220% ihres Anfangsgehaltes.

3. Das Verhalten der Chloroplastenproteine läßt eine deutliche Abhängigkeit von der Herkunft der untersuchten Teile erkennen. Die Synthese läuft in wachsenden „Vorderstücken" und in kernlosen Zellen in der Regel bis zum 21. Tage weiter, in nicht wachsenden „Hinterstücken" jedoch nur bis zum 7. Tage. Entsprechend ist auch die Zunahme in Hinterstücken geringer (etwa 50—60% des Anfangsgehaltes) als in Vorderstücken und kernlosen Zellen (etwa 100—130% und 80—150% des Anfangsgehaltes).

4. Die Prozesse, die zur Beendigung der Synthese von Chloroplasten- und löslichen Proteinen führen, werden erörtert.

Fräulein v. ROYK danke ich für die Mithilfe bei den Versuchen.

Literatur

BETH, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. 8b, 334—342 (1953). — BRACHET, J.: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. I. *Amoeba proteus*. Biochim. biophys. Acta **18**, 247—268 (1955). — Biochemical Cytology. New York: Academic Press Inc., Publishers 1957. — BRACHET, J., and H. CHANTRENNE: Protein synthesis in nucleated and non-nucleated halves of *Acetabularia* studied with carbon-14 dioxide. Nature (Lond.) **168**, 950 (1951). — Incorporation de $C^{14}O_2$ dans les proteines des chloroplastes et des microsomes de fragments nuclées et anuclées d'*Acetabularia mediterranea*. Arch. int. Physiol. **60**, 547—549 (1952). — The function of the nucleus in the synthesis of cytoplasmic proteins. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **21**, 329—337 (1956). — BRACHET, J., H. CHANTRENNE et F. VANDERHAEGHE: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et la cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — CHIBA, Y.: Cytochemical studies on chloroplasts. I. Cytological demonstration of nucleic acids in chloroplasts. Cytologia (Tokyo) **16**, 259—264 (1957). — CLAUSS, H.: Das Verhalten der Phosphorylase in kernhaltigen und kernlosen Teilen von Acetabularia mediterranea. Planta (Berl.) **52** (1959) im Druck. — CLAUSS, H., u. K. KECK: Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. Planta (Berl.) **52** (1959) im Druck. — COMAR, C. L., and F. P. ZSCHEILE: Analysis of plant extracts for chlorophyll a and b by a photoelectric spectrophotometric method. Plant Physiol. **17**, 198—209 (1942). — FICQ, A.: Zitiert in J. BRACHET, H. CHANTRENNE et F. VANDERHAEGHE, Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et la cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — GIARDINA, G.: Rôle of the nucleus in the maintenance of the protein level in the alga *Acetabularia mediterranea*. Experientia (Basel) **10**, 215 (1954). — HÄMMERLING, J.: Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934a). — Regenerationsversuche an kernhaltigen und kernlosen Zellteilen von *Acetabularia Wettsteinii*. Biol. Zbl. **54**, 650—665 (1934b). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Nucleus and cytoplasm in *Acetabularia*. 8. Congr. Intern. de Botan., Paris. Compt. rend. des Séanc. et Rapp. et Communic. deposés lors du Congr. dans la Sect. **10**, 87—103 1957. — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and proteinsynthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6** (1959) im Druck. — HÄMMERLING, J., u. G. WERZ: Über den Wuchsmodus von *Acetabularia*. Z. Naturforsch. **13b**, 449—454 (1958). — HÄMMERLING, J. u. CH.: Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. Planta (Berl.) **52** (1959) im Druck. — HEITZ, E.: Untersuchungen über die Teilung der Chloroplasten. Nebst Beobachtungen über Zellgröße und Chromatophorengröße. Straßburg: J. H. Ed. Heitz 1922. — JAGENDORF, A. T., and S. G. WILDMAN: The proteins of green leaves. Centrifugal fractionation of tabacco leaf homogenates and some properties of isolated chloroplasts. Plant Physiol. **29**, 270—279 (1954). — KECK, K., u. H. CLAUSS: Bot. Gaz. **1958** (im Druck). — KECK, K., and H. STICH: The widespread occurrence of polyphosphate in lower plants. Ann. Bot. **21**, 611—619 (1957). — KLEBS, G.: Über den Einfluß des Kernes in der Zelle. Biol. Zbl. **7**, 161—168 (1887). — KUFF, E. L., G. H. HOGEBOOM and A. J. DALTON: Centrifugal, biochemical and electron micro-

scopic analysis of cytoplasmic particulates in liver homogenates. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 33—53 (1956). — Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr and R. J. Randall: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. biol. Chem. **193**, 265—275 (1951). — Mazia, D., and D. M. Prescott: The rôle of the nucleus in protein synthesis in *Amoeba*. Biochim. biophys. Acta **17**, 23—34 (1955). — McClendon, J. H.: The intracellular localisation of enzymes in tabacco leaves. I. Identification of components of the homogenate. Amer. J. Bot. **39**, 275—282 (1952). — Metzner, H.: Cytochemische Untersuchungen über das Vorkommen von Nukleinsäuren in Chloroplasten. Biol. Zbl. **71**, 257—272 (1952). — Nowikoff, A., E. Podber, J. Ryan and E. J. Noe: Biochemical heterogenity of the cytoplasmic particles isolated from rat liver homogenate. Histochem. and Cytochem. **1**, 27—46 (1953). — Richter, G.: Enzymologische Untersuchungen an *Hydrodictyon reticulatum* (L) Lagerh. mit besonderer Berücksichtigung periodischer Aktivitätsschwankungen. Diss. Marburg 1956. — Zur Frage der RNS-Synthese in kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Naturwiss. **44**, 520—521 (1957). — Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 259—275 (1958). — Die Auswirkungen der Zellkern-Entfernung auf die Synthese von RNS und Cytoplasma-Proteinen bei Acetabularia. Biochim. biophys. Acta **1959** (im Druck). — Richter, G., u. H. Naora: Biochim. biophys. Acta **1959** (im Druck). — Stephenson, M. L., K. V. Thimann and P. C. Zamecnik: Incorporation of C^{14} amino acids into proteins of leaf disks and cell-free fractions of tabacco leaves. Arch. Biochem. **65**, 194—209 (1956). — Stich, H.: Synthese und Abbau der Polyphosphate von *Acetabularia* nach autoradiographischen Untersuchungen des ^{32}P-Stoffwechsels. Z. Naturforsch. **10b**, 281—284 (1955). — Stich, H., and W. Plaut: The effect of Ribonucelase on protein synthesis in nucleated and enucleated fragments of *Acetabularia*. Biophys. and biochem. Cytol. **4**, 119—121 (1958). — Vanderhaeghe, F.: Les effects de l'énucléation sur le synthèse des protéins chez *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **15**, 281—287 (1954). — Werz, G.: Zit. in J. Hämmerling, Neuere Versuche über die Polarität und Differenzierung bei *Acetabularia*. Biol. Zbl. **74**, 545—554 (1955). — Werz, G., u. J. Hämmerling: Proteinsynthese in wachsenden und nicht wachsenden kernlosen Zellteilen von Acetabularia. Developm. Biol. **1** (1959) im Druck.

Dr. Heinz Clauss, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie (Abt. Hämmerling), Wilhelmshaven, Anton-Dohrn-Weg

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach Jansen" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Erinnerungen eines Biologen

Von **Karl von Frisch.** Mit einem Porträt, 39 Textabbildungen, einem Aquarell und einem Stammbaum. VII, 172 Seiten Gr.-8°. 1957. Ganzleinen DM 26.—

Inhaltsübersicht: Woher des Weges. Schulzeit. Auf der Universität. Als Assistent am Münchner Zoologischen Institut. Habilitation und weitere Assistentenjahre in München. Zwischenspiel im Rudolfinerhaus (1914—1918). Zur Zoologie zurück. Als Ordinarius in Rostock (1921—1923). Breslau (1923—1925). Wieder in München. Amerikareise 1930. Im neuen Institut. Zweiter Weltkrieg. Stille Arbeit in Brunnwinkl 1945/46. Graz 1946—1950. Zweite Amerikareise (1949). Zum fünftenmal nach München. Verzeichnis der Arbeiten. Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Ergebnisse der Mikrobiologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie

Herausgegeben von **W. Kikuth**, Düsseldorf, **K. F. Meyer**, San Francisco, **E. G. Nauck**, Hamburg, **A. M. Pappenheimer jr.**, New York, **J. Tomcsik**, Basel.

Im Januar 1958 erschien:

Einunddreißigster Band: Mit 43 Abbildungen. III, 256 Seiten Gr.-8°. 1958. DM 54.—

Inhaltsübersicht: **Allgemeine Morphologie menschen- und tierpathogener Virusarten.** Von W. Schäfer, Tübingen. — **Die enzymatische Anpassung bei Mikro-Organismen ohne Veränderung des Erbgutes.** Von M. Leiner, Mainz. — **Alte und neue Probleme der Staphylokokken.** Von L. Grün, Düsseldorf. — **Die Rückfallfieber.** Von H. Mooser, Zürich. — Namen- und Sachverzeichnis. — Jeder Beitrag enthält ein Literaturverzeichnis.

Im Juni 1957 erschien:

Dreißigster Band: Mit 63 Abbildungen. III, 343 Seiten Gr.-8°. 1957. DM 68.—

Inhaltsübersicht: **Multicellularity in Bacteria.** By K. A. Bisset, Birmingham/Great Britain. — **Bacterial Flagella and Motility.** By A. Pijper, Pretoria/South Africa. — **Die Anwendung von Phagen in der bakteriologischen Diagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Typisierung von Typhus- und Paratyphus B-Bakterien sowie Staphylokokken.** Von H. Brandis, Frankfurt a. M./Deutschland. — **Das Kauffmann-White-Schema.** Von F. Kauffmann, Kopenhagen/Dänemark. — **Activités Bactériolytiques des Microorganismes.** Par M. Welsch, Liège/Belgique. — **Die Bakteriencytologie im Vergleich zum Feinbau höher differenzierter Zellen.** Von H. Ruska, Albany, N. Y./USA. — **Die serologische Diagnostik der Viruserkrankungen des Menschen.** Von W. Hennessen, Düsseldorf/Deutschland. — Namen- und Sachverzeichnis. — Jeder Beitrag enthält ein Literaturverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg
Printed in Germany